

**Emission und Verhaltenswirksamkeit
der Pheromonkomponenten
des Nelkenwicklers,
Cacoecimorpha pronubana
(Lepidoptera: Tortricidae)**

Peter Witzgall

Disbui. München

1989





Digitized by the Internet Archive
in 2026

Emission und Verhaltenswirksamkeit der Pheromonkomponenten des
Nelkenwicklers, *Cacoecimorpha pronubana*
(Lepidoptera: Tortricidae)

Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
des Fachbereichs Biologie
der Ludwigs-Maximilians-Universität
München

vorgelegt von Peter Witzgall
Dachau
Dezember 1987

Referent.....	Prof. Dr. K.-E. Kaißling
Korreferent.....	Prof. Dr. H. Wieczorek
externer Referent	Prof. Dr. E. Priesner
Mündliche Prüfung:	10. 2. 1989

Meinen Eltern

Die Arbeit wurde am Laboratoire des Médiateurs Chimiques (INRA/CNRS), Brouessy, Frankreich mit Unterstützung eines Auslandsstipendiums der Max-Planck-Gesellschaft angefertigt. Herrn Prof. Dr. D. Schneider, Seewiesen bin ich für die Vermittlung des Stipendiums und für sein reges Interesse am Fortgang der Arbeit verpflichtet.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. C. Descoins, Brouessy und Herrn Dr. E. Priesner, Seewiesen für die Betreuung des experimentellen Teils der Arbeit, sowie Herrn Dr. H. Arn, Wädenswil für seine Unterstützung während der Auswertung der Versuchsergebnisse. Frau Dr. B. Frérot und Herrn C. Malosse, Brouessy danke ich für die Einführung in die Methoden der Gaschromatographie und der Massenspektrometrie, sowie stete Hilfe und Diskussionsbereitschaft. Frau M. Leverage war für die Zucht der Insekten verantwortlich.

Allen Kollegen in Brouessy, Seewiesen und Wädenswil sei für die freundliche Aufnahme und anregende Diskussionen gedankt.

Emission und Verhaltenswirksamkeit der Pheromonkomponenten des Nelkenwicklers,
Cacoecimorpha pronubana Hbn. (Lepidoptera: Tortricidae)

Einleitung.....	4
1. Chemische Identifikation des Weibchenpheromons von <i>Cacoecimorpha pronubana</i>	
1.1. Einleitung.....	7
1.2. Material und Methoden.....	8
1.3. Ergebnisse.....	11
1.4. Diskussion.....	15
2. Messung der von individuellen Weibchen abgegebenen Pheromonkomponenten	
1.1. Einleitung.....	18
1.2. Material und Methoden.....	20
1.3. Ergebnisse.....	24
1.4. Diskussion.....	28
3. Bestimmung des tageszeitlichen Rhythmus der Pheromonproduktion	
1.1. Einleitung.....	30
1.2. Material und Methoden.....	32
1.3. Ergebnisse.....	34
1.4. Diskussion.....	39
4. Verhaltenswirksamkeit der Pheromonkomponenten	
1.1. Einleitung.....	42
1.2. Material und Methoden.....	44
1.3. Ergebnisse.....	47
1.4. Diskussion.....	55
5. Gesamtdiskussion.....	62
Zusammenfassung.....	72
Literaturverzeichnis.....	73

Einleitung

Seit der Strukturaufklärung des Sexualpheromons des Seidenspinners *Bombyx mori* durch Butenandt et al. (1959) wurden die weiblichen Pheromone von mehr als 250 Schmetterlingsarten chemisch identifiziert (s. Arn et al., 1986). Mehrere Gründe können für diese intensive Forschungstätigkeit während der letzten drei Jahrzehnte angeführt werden.

Einerseits erwiesen sich die Pheromonsysteme der Lepidopteren als hervorragende Modelle für das Studium grundlegender geruchsphysiologischer Fragen, wie etwa der Frage nach der sensorischen Wahrnehmung und nervösen Verarbeitung von Duftreizen (Schneider 1957, 1984 a, Boeckh 1974, 1984, Boeckh und Ernst, 1987, Boeckh et al., 1984, O'Connell et al., 1986, Priesner 1986, Kaissling, 1979, 1987), oder nach den Mechanismen der Orientierung eines Tieres beim Anflug an eine entfernte Duftquelle (Kennedy, 1986, Preiss und Kramer, 1986). Auf der anderen Seite stand die Hoffnung, Pheromone verstärkt für eine selektive und damit umweltfreundliche Bekämpfung von Schädlingsarten einzusetzen (Götz, 1941, Bartell, 1982, McLaughlin, 1986, Audemard und Leblon, 1987, Charmillot, 1987, Sanders, 1987, Vogt, 1987). In einigen Verwandtschaftsgruppen der Lepidopteren treten seit einigen Jahren Bemühungen hinzu, durch Vergleich der Pheromonsysteme nahe verwandter Arten neue Einblicke auch in Vorgänge der Artbildung und Artisolation zu gewinnen (Roelofs und Cardé, 1974, Priesner 1979, 1985, Roelofs und Brown, 1982, Hendrikse 1986, Priesner und Baltensweiler, 1987 a, b).

Karlson und Lüscher (1959) definierten Pheromone "... als Stoffe, die von einem Individuum nach außen sezerniert werden, von einem zweiten Individuum der gleichen Art aufgenommen werden und dort eine spezifische Reaktion, zB. ein bestimmtes Verhalten ... auslösen". Diese Definition stand unter dem Eindruck der Identifizierung des Seidenspinnerlockstoffs und ging entsprechend von der Annahme aus, daß das Sexualpheromon einer Art im wesentlichen aus nur einer wirksamen Substanz besteht. Heute wissen wir, daß die meisten Insektensexualpheromone komplexe Mischungen mehrerer chemischer Bestandteile darstellen, wobei verschiedene Arten oft dieselben Stoffe, jedoch in unterschiedlichen Mengenverhältnissen benützen.

Dies warf eine Reihe zusätzlicher Fragen auf, an deren Klärung heute intensiv gearbeitet wird: Wie erkennt das Empfängerindividuum die Bestandteile des arteigenen Pheromonsignals gegenüber strukturverwandten Verbindungen, wie das arteigene Mischungsverhältnis? Wie



werden diese Reize in den Antwortmustern von Sinneszellen verschlüsselt und zentralnervös weiterverarbeitet? Welche Rolle spielen die einzelnen Bestandteile des Pheromonsignals während der Orientierungssequenz an die Duftquelle und im weiteren Paarungsablauf; können den einzelnen chemischen Komponenten z.B. unterschiedliche "Verhaltensfunktionen" zugeordnet werden, oder ist für die Auslösung eines bestimmten Verhaltensschritts eher ein Zusammenwirken aller Bestandteile des Duftsignals erforderlich? Wie reguliert andererseits das Senderindividuum die Zusammensetzung seines Duftsignals, wie weit ändert sich diese Zusammensetzung z.B. mit dem Tagesverlauf, dem Lebensalter oder dem physiologischen Zustand des Tieres? Über welchen Bereich variiert die Zusammensetzung des weiblichen Pheromonsignals innerhalb einer Falterpopulation, wie weit ist diese Variation mit dem Bereich optimaler Antwortbereitschaft der Männchen korreliert?

Die vorliegende Arbeit versucht, am Beispiel des Nelkenwicklers *Cacoecimorpha pronubana* Hbn. (Lepidoptera: Tortricidae, Archipini) einige dieser Fragen einer Klärung zuzuführen.

Wie die meisten näher untersuchten Arten der Familie der Tortriciden besitzt *C. pronubana* ein Mehrkomponentenpheromon, das zu Beginn der Arbeit chemisch bereits teilweise bekannt war (Descoins et al., 1985). Die tagaktive Lebensweise der Art erleichtert Verhaltensbeobachtungen und experimentelle Manipulationen der Versuchstiere. Die Diapause ist bei *C. pronubana* nicht obligatorisch, sie wird nur von der abnehmenden Tageslänge induziert; dies ermöglicht eine kontinuierliche Massenzucht auf semiartifiziellem Medium.

C. pronubana ist im gesamten Mittelmeerraum weit verbreitet. Die Art ist ausgesprochen polyphag und wird in verschiedenen Blumen-, Gemüse- und Obstkulturen schädlich. Überlappende Generationen und die versteckte Lebensweise der Larven erschweren die Behandlung mit Insektiziden (Bovey, 1972) und lassen auch deshalb ökologisch und ökonomisch sinnvolle Bekämpfungsmaßnahmen als wünschenswert erscheinen. Es wurden in die vorliegende Untersuchung daher auch solche Aspekte der Pheromonchemie und -biologie einbezogen, die auch für die praktische Anwendung des Sexualpheromons zur Bekämpfung dieses Kleinschmetterlings von Bedeutung sein könnten.

Das erste Kapitel der Arbeit befaßt sich mit der chemischen Identifikation aller in der Pheromondrüse von *C. pronubana* produzierten, pheromonähnlichen Substanzen. Der zweite Teil behandelt die Messung der Pheromonemission, der dritte Teil stellt Produktion und Emission für individuelle Weibchen gegenüber. Schließlich folgen im vierten Kapitel die Studien an männlichen Faltern zur Klärung der Verhaltenswirksamkeit der identifizierten Pheromonkomponenten.

Diesen vier methodisch sehr verschiedenen Abschnitten ist jeweils ein eigener Einleitungsteil vorangestellt; eine gesonderte Diskussion der Ergebnisse findet sich am Ende eines jeden Kapitels. In einer abschließenden Gesamtdiskussion werden die neuen Befunde dem bisher bei Lepidopteren bekannten Bild kritisch zugeordnet und Ausblicke auf weiterführende Arbeiten gegeben.

1. Chemische Identifikation des Weibchenpheromons von *Cacoecimorpha pronubana*

1.1. Einleitung

Ein erster Schritt in der experimentellen Analyse des Pheromonsystems eines Insekts ist die Bestimmung der chemischen Struktur und der relativen Anteile der beteiligten Pheromonkomponenten.

Während zur Identifikation des Seidenspinnerpheromons noch die Drüsenextrakte von insgesamt 500 000 Weibchen erforderlich waren (Butenandt et al., 1959), ermöglichte die Entwicklung der Gaschromatographie mit hochauflösenden Kapillarsäulen, in Verbindung mit Massenspektrometrie, die effiziente Identifikation von Pheromonen anhand weniger Individuen. Aus der Familie der Tortriciden liegen für eine Vielzahl von Arten Angaben zur chemischen Zusammensetzung des weiblichen Pheromons vor (Arn et al., 1986). Bei den beteiligten Komponenten handelt es sich fast durchwegs um aliphatische Acetate, Alkohole oder Aldehyde der Kettenlänge 12 bis 18.

Für *C. pronubana* waren zu Beginn der Untersuchungen bereits Z-11-Tetradecenylacetat (Z11-14:Ac), E-11-Tetradecenylacetat (E11-14:Ac) und Z-11-Tetradecen-1-ol (Z11-14:OH) als Pheromonkomponenten bekannt (Descoins et al., 1985). Diese Autoren hatten in der Weibchendrüse und im Weibcheneffluvium zudem zwei Aldehyde (Z11-14:Ald, E11-14:Ald) nachgewiesen, konnten aber deren Verhaltensfunktion nicht aufklären. Weiterhin war bekannt, daß für die drei genannten verhaltensaktiven Komponenten (Z11-14:Ac, E11-14:Ac, Z11-14:OH), sowie für ein weiteres, ungesättigtes Acetat, Z-9-Tetradecenylacetat (Z9-14:Ac) spezifische Rezeptorzellen in den *Sensilla trichodea* der Männchenantennen existieren (Priesner, 1979).

Die notwendige Voraussetzung für die nachfolgenden Verhaltensstudien war der Nachweis sowohl dieser, als auch möglicher weiterer, pheromonartiger Komponenten in der Weibchendrüse und im Effluvium lockender Weibchen.

1.2. Material und Methoden

Insekten. Die untersuchten Weibchen stammten aus einer permanenten Laborzucht (14:10 L:D Photoperiode, 20 °C, 80% rel. Feuchte) auf semiartifiziellem Nährmedium (Guennelon, 1968). Der Laborstamm wurde jährlich einmal mit im Freiland gesammelten Faltern gekreuzt. Männchen und Weibchen wurden im Puppenstadium getrennt, die geschlüpften Weibchen täglich abgesammelt, einzeln in Plastikdosen (200 ml) aufbewahrt und mit einer 2%-igen Zuckerlösung gefüttert.

Pheromonextraktion. Das Weibchenpheromon wurde von drei Tagen alten, lockenden Weibchen während der ersten zwei Stunden der Lockperiode mit drei verschiedenen Methoden isoliert.

Drüsenextrakte. Die Hinterleibsenden der Weibchen wurden mit einer flachen Pinzette vorsichtig gedrückt, bis zwischen dem 8. und 9. Hinterleibssegment die Pheromondrüse sichtbar wird. Die Drüse wird mit einer feinst geschliffenen Pinzette entfernt und von fremden Gewebeteilen oder Flügelschuppen gesäubert. In mit flüssigem Stickstoff gekühlten Glasfläschchen mit konischen Böden und Teflonverschlüssen wurden jeweils 30 Drüsen in 1 ml Hexan (Merck, zur Rückstandsanalyse) gesammelt, und sechs Stunden lang bei -18 °C aufbewahrt. Die Extrakte wurden anschließend mit gereinigter Glaswolle filtriert und unter Stickstoff auf 10 µl konzentriert. 5 oder 10 µl dieser Lösungen wurden für die chemische Analyse verwendet.

Mit der gleichen Methode präparierte Drüsen wurden einzeln je 1 min lang in 10 µl Hexan getaucht, das verbleibende Lösungsmittel unmittelbar zur chemischen Analyse verwandt.

Weibcheneffluvia. Die von lockenden Weibchen abgegebenen Komponenten wurden nach der in Abschnitt 2 beschriebenen Methode gesammelt. Die Effluvia von zehn lockenden Weibchen wurden während der ersten zwei Stunden der Lockperiode in Glaskapillaren kondensiert, die Kapillare (30 cm lang) alle 60 min ausgetauscht. Alle Kapillaren wurden nacheinander mit 30 µl Hexan eluiert. Auf Grund der Verdampfung von Lösungsmittel in den Kapillaren blieb eine Lösung von 5- 10 µl zurück, die sofort am Gaschromatographen oder am Massenspektrometer analysiert wurde.

Zudem wurden 20 Weibchen während den ersten 2 Stunden der Lockphase in einen kugelförmigen Glasbehälter (Ø 7 cm) mit statischer Atmosphäre eingeschlossen. Die Weibchen saßen auf der Glasoberfläche, die auf Grund der Aktivität der Weibchen nach einiger Zeit mit Flügelschuppen bedeckt war. Der Behälter wurde mehrmals mit Hexan gewaschen, die Lösung mit Glaswolle gefiltert, auf 10 µl konzentriert und sofort analysiert.

Gaschromatographie. Die Analysen aller natürlichen Extrakte und synthetischen Substanzen wurden an zwei Geräten durchgeführt:

- Ein Teil der Analyse erfolgte an einem Girdel 300 Gaschromatographen mit Ross Injektor (250 °C) und FID Detektor ("flame ionization detector"; 250 °C). Helium wurde als Trägergas bei einem Druck von 1.6 bar benutzt. Es wurden zwei verschiedene Kapillarsäulen, eine polare (CPWax, 57CB, 25 m, 0.22 mm ID) und eine apolare (CPSil, 8CB, 25 m, 0.32 mm ID) verwendet. Die Säulentemperatur wurde vorprogrammiert und von 140 °C bis 240 °C bei 2 °C/min gesteigert. Die Retentionszeiten und die Peakfläche wurden von einem Intersmat Computer registriert, die Kovatskoeffizienten wurden nachträglich berechnet. Die identifizierten Substanzen wurden im Vergleich mit synthetischen Substanzen bekannter Dosis anhand der Peakfläche quantifiziert.

- Zur Identifikation des Aldehyds wurde zusätzlich eine mikropräparative gaschromatographische Analyse an einem Perkin Elmer 3920 ausgeführt. Injektions- und Detektionstemperatur waren ebenfalls 250 °C, Helium wurde als Trägergas benutzt. Dabei wurde eine apolare, gepackte Säule aus Metall (Chrom G, HP 80160, 2 m, 3 % OVI) benutzt, Die Säulentemperatur war vorprogrammiert und stieg von 140 °C bei 4 °C/min auf 250 °C. Gepackte Säulen sind im Vergleich zu den Kapillarsäulen wesentlich stärker belastbar, deshalb konnten für diese Analyse zwei Extrakte von je 100 Weibchendrüssen verwandt werden. Die hohen Mengen an Pheromon in diesen Extrakten ermöglicht die mikropräparative Trennung selbst minoritärer Komponenten. Zunächst wurde dazu auf der gepackten Säule im Vergleich mit den bereits identifizierten Substanzen der die fragliche Komponente enthaltende Peak bestimmt. Der Gaschromatograph ist mit einer Verzweigung ausgerüstet, die es erlaubt, während eines bestimmten Zeitraums nur einen Teil des Eluats (ca. 5%) dem FID Detektor, den Rest einer Glaskapillare (30 cm lang) zuzuführen. Der erste Teil der Kapillare (ca. 5 cm) hat Säulentemperatur, der zweite wird mit einer Mischung aus CO₂ und Aceton abgekühlt. Kurz vor Elution des Aldehydpeaks auf der polaren Säule werden ca. 95% der auslaufenden Substanzen in diese Kapillare eingeleitet, die im zweiten Teil des Kapillarrohrs kondensieren. Die Komponenten des betreffenden Peaks werden daraufhin aus der Kapillare mit Hexan extrahiert, auf einer polaren Säule getrennt und am Massenspektrometer analysiert.

Gaschromatographie/ Massenspektrometrie. Die GC/MS- Analysen wurden an einem Ribermag R-10-10 computergesteuerten Massenspektrometer ausgeführt. Die Proben wurden zuerst gaschromatographisch getrennt, es kamen die oben beschriebenen Kapillarsäulen bei gleicher Temperaturprogrammation zum Einsatz (Trägergas: Helium). Der gesamte Ausfluß der Kapillarsäule wurde direkt der Ionisationsquelle (70 eV) zugeführt. Die Drüsenkomponenten wurden im Vergleich mit synthetischen Substanzen entsprechend der Retentionszeiten und der Elektronenstoßionisationsspektren chemisch identifiziert.

Interpretation der Massenspektren. Folgende Charakteristika der Massenspektren wurden zur Identifikation der Substanzen herangezogen:

Acetate: Zunächst wurde für alle Komponenten das Auftreten des Schlüsselions $\text{CH}_3\text{COOH}_2^+$ ($m/e = 61$) und des Molekülions $\text{M}^{+\cdot} - \text{CH}_3\text{COOH}$ ($\text{M}^{+\cdot} - 60$), sowie die relativen Häufigkeiten der einzelnen Ionen im Spektrum untersucht. Langkettige, positionsisomere ungesättigte Acetate, Alkohole und Aldehyde unterscheiden sich im Massenspektrum oft in den relativen Intensitäten im unteren Massenbereich (m/e : 50-120).

Alkohole: Das verwendete Massenspektrometer zeigt nicht in allen Fällen das für die Alkohole charakteristische Molekülion ($\text{M}^{+\cdot}$), dafür aber das Fragmention $\text{M}^{+\cdot} - \text{H}_2\text{O}$ ($\text{M}^{+\cdot} - 18$). Für die Identifikation der Alkohole wurde zudem das Verteilungsmuster der relativen Häufigkeit der Ionen, und der Vergleich der Retentionszeiten mit synthetischen Substanzen herangezogen.

1.3. Ergebnisse

Abb. 1 zeigt ein Gaschromatogramm angereicherter Effluvia auf der polaren Säule, das Eluat wurde direkt der Ionisationsquelle des Massenspektrometers zugeführt. Die in Tab. 1 aufgeführten Verbindungen wurden eindeutig auf Grund ihrer Retentionszeiten auf einer polaren und apolaren Kapillarsäule und ihren Ionisationsspektren chemisch identifiziert. Insgesamt ergibt sich für die untersuchten Extrakte und Effluvia folgendes Bild:

Gesättigte Acetate: Drei gesättigte Acetate der Kettenlänge 12 (a: Abb. 1, Tab. 1), 14 (e) und 16 (n) wurden im Vergleich mit synthetischen Substanzen anhand der charakteristischen Ionen und Retentionszeiten in Extrakten und Effluvia nachgewiesen (Tab. 1).

Ungesättigte Acetate: Die mengenmäßig überwiegende Komponente Z11-14:Ac (h) und deren *E*- Isomer (g) wurden eindeutig identifiziert. Außerdem war in allen Extrakten wie Effluvia das Z9-14:Ac (f) nachzuweisen. Da E11-14:Ac und Z9-14:Ac auf polaren (Abb. 1) und unpolaren Säulen nur knapp getrennt werden können, war dieser Nachweis nur mit Hilfe hochauflösender Kapillarsäulen möglich. Überraschend war das Vorkommen eines doppelt ungesättigten Acetats (m), das zu Z9,E11-14:Ac (*m/e*: 43(100%), 55, 61, 67, 82, 95, 192, 252) bestimmt wurde. Z11-16:Ac war nur in Extrakten von 30 Weibchendrüssen nachweisbar (Tab. 1). Beide Verbindungen wurden auf Grund ihrer Retentionszeiten, sowie des Molekül- und Fragmentions und der Ionenverteilung identifiziert. Ein ungesättigtes Acetat der Kettenlänge 12 (b) wurde bei beiden Extraktionsmethoden beobachtet. Die Position und Art der Doppelbindung konnte mit GC-Analysen nicht eindeutig geklärt werden, da Z7-12:Ac und Z9-12:Ac fast identische Retentionszeiten aufweisen. Der Vergleich der Ionenspektren des synthetischen Z7-12:Ac (*m/e*: 43, 55 (100%), 61, 68, 81, 95, 109, 166), des synthetischen Z9-12:Ac (*m/e*: 43, 55, 61, 68 (100%), 81, 95, 109, 166) und der natürlichen Substanz weist auf die Produktion von Z9-12:Ac in den Drüsen von *C. pronubana* hin.

Gesättigte Alkohole: Analog zu den gesättigten Acetaten waren (auf Grund der Ionenverteilung im unteren Massenbereich, des Fragmentions ($M^{+}-18$) und der Retentionszeiten) die gesättigten Alkohole der Kettenlänge 12 (c), 14 (i) und 16 (o) nachzuweisen.

Tab. 1. Relativer Anteil potentieller Pheromonkomponenten in Drüsenextrakten und Effluvium von *C. pronubana*

Komponente		Abkürzung	Drüsenextrakt		Effluvium	
			1 min ¹	6 h ²	Luftstrom ³	statisch ⁴
a	Dodecylacetat	12:Ac	0,9	1,2	0,5	-
b	Z-9-Dodecenylacetat	29-12:Ac	0,3	0,4	0,2	-
c	Dodecanol	12:OH	0,2	0,1	0,8	4,1
d	Δ-Tetradecen-1-Aldehyd	Δ-14:Al	-	0,1	0,1	0,1
e	Tetradecylacetat	14:Ac	6,6	5,8	5,7	-
f	Z-9-Tetradecenylacetat	29-14:Ac	0,3	1,7	1,3	-
g	E-11-Tetradecenylacetat	E11-14:Ac	5,5	5,9	5,3	-
h	Z-11-Tetradecenylacetat	Z11-14:Ac	78,7	78,1	77,8	10,9
i	Tetradecanol	14:OH	0,7	0,4	1,4	6,1
k	E-11-Tetradecen-1-ol	E11-14:OH	0,1	0,3	0,1	9,1
l	Z-11-Tetradecen-1-ol	Z11-14:OH	5,4	3,8	5,1	68,2
m	Z-9,E-11-Tetradecenylacetat	Z9,E11-14:Ac	0,7	1,9	1,0	-
n	Hexadecylacetat	16:Ac	0,6	0,2	0,2	1,6
o	Z-11-Hexadecylacetat	Z11-16:Ac	-	0,1	-	-
p	Hexadecanol	16:OH	-	-	0,4	-
	Z-11-Hexadecen-1-ol	Z11-16:OH	-	-	0,1	-

1 1 Weibchen, 1-minütige Extraktion, n=12

2 30 Weibchen, 6-stündige Extraktion, n=4

3 10 einzelne Weibchen, 2-stündige Messung, n=6

4 20 Weibchen, 2-stündige Messung, n=2

- nicht nachgewiesen

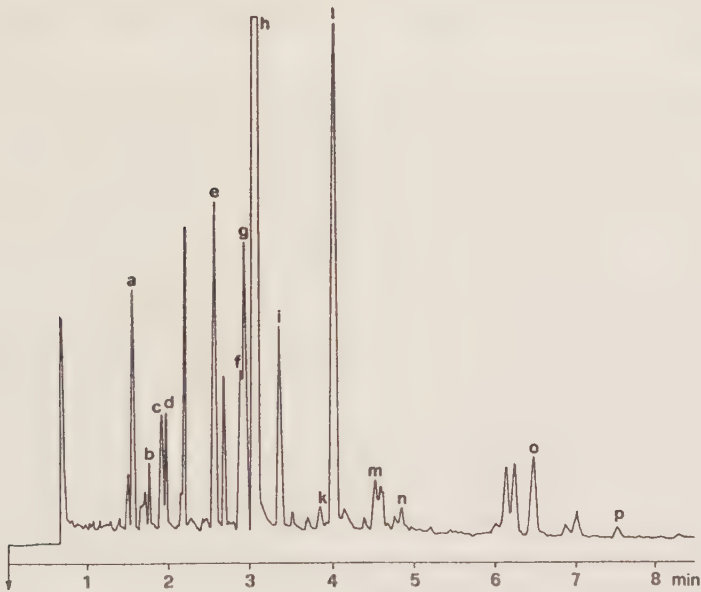


Abb. 1. Chromatogramm der während der ersten zwei Stunden der Lockperiode in Glaskapillaren adsorbierten Effluvia von 30 *C. pronubana*-Weibchen. Die Kleinbuchstaben entsprechen den in Tab. 1 aufgeführten Verbindungen (Silica-Säule: CPWax, 57 CB, 25 m, ID 0.22 mm; 140–220°C, 2°C/min).

Ungesättigte Alkohole: Sowohl in den Extrakten wie in den Effluvia wurden auch die den beiden mengenmäßig überwiegenden einfach ungesättigten Acetaten entsprechenden isomeren Alkohole Z11-14:OH (l) und E11-14:OH (k) nachgewiesen. Die Massenspektren von manchen Alkoholen und Aldehyden ähneln einander stark, zudem hat das Molekülion (M^{+}) des Aldehyds die gleiche Masse (m/e) wie das gelegentlich auftretende Fragmention ($M^{+}-2$) primärer Alkohole. Deshalb wurden die Alkohole zusätzlich zum Vergleich der Massenspektren im unteren Massenbereich auf Grund der Retentionszeiten identifiziert. Z11-16:OH (p) trat, ebenso wie der gesättigte 16:OH (o) nur in den Weibcheneffluvia, nicht aber in den Drüsenextrakten auf (Tab. 1). Die im Vergleich zu Acetaten stärkere Adsorption von Alkoholen auf Glasoberflächen (s. Abschnitt 3, Abb. 2) kann zu einer etwas stärkeren Anreicherung von Alkoholen in den für die Extraktion der Effluvia benutzten Glaskapillaren führen. Weiterhin sind die Drüsenextrakte stark mit Fettsäuren und anderen Gewebekomponenten belastet, die erst im hinteren Teil des Chromatogramms auslaufen, diese Verunreinigungen können den Nachweis der länger-kettigen Komponenten erschweren oder unmöglich machen. Im Vergleich dazu weisen die Weibcheneffluvia weit weniger Verunreinigungen auf. Die weiteren, in Abb. 1 gezeigten, nicht mit Buchstaben gekennzeichneten Peaks sind auf solche Verunreinigungen zurückzuführen.

Aldehyde: In unmittelbarer Nachbarschaft des 12:OH trat auf der apolaren Säule ein weiterer Peak auf (Abb. 1; d), dessen Ionenspektrum, bedingt durch das geringe Vorkommen (0.1%), und des weitgehenden Fehlens des Molekülions von Alkoholen auf dem benutzten Massenspektrometer entweder als einfach ungesättigter C12-Alkohol, oder aber als einfach ungesättigter C14-Aldehyd interpretiert werden konnte. Die Substanz wurde, nach der mikropräparativen Trennung der fraglichen Fraktion auf einer gepackten, apolaren Säule (s. Abschnitt 1.2), am Massenspektrometer (apolare Kapillarsäule) durch Vergleich der Retentionszeiten mit synthetischen Aldehyden und Alkoholen und der Häufigkeitsverteilung der Ionen als einfach ungesättigter Aldehyd der Kettenlänge 14 identifiziert. Lediglich die Position der Doppelbindung konnte nicht bestimmt werden, da nicht alle positionsisomere, synthetische Aldehyde zur Verfügung standen. Auf Grund des mengenmäßigen Überwiegens von Komponenten mit Z11-Doppelbindungen in der Pheromondrüse von *C. pronubana* ist zu vermuten, daß es sich um den Z11-14:Ald handelt (m/e : 41, 55 (100%), 69, 81, ...). Wegen der geringen Gesamtmenge des Aldehyds im Extrakt waren die Fragmentionen im höheren Massenbereich nicht mit Sicherheit zu bestimmen. Das *E*-Isomer des Aldehyds war nicht nachzuweisen. In dieser Fraktion konnte die Anwesenheit des Δ^9 -12:Ac erneut bestätigt werden (s.o.).

Vergleich der Extraktionsmethoden. Die relativen Anteile der identifizierten Komponenten sowohl in den individuellen Drüsenextrakten (1-minütige Extraktion), den Extrakten mit 30 Drüsen (6-stündige Extraktion), als auch den Weibcheneffluvia gleichen sich stark. Bis auf das schwerer flüchtige Z11-16:Ac (0.1 %) wurden alle in der Drüse produzierten Komponenten in den Effluvia nachgewiesen, in denen zusätzlich die beiden Alkohole 16:OH und Z11-16:OH vorkommen. Im Gegensatz zu den in Kapillaren kondensierten Effluvia individueller Weibchen findet sich in den in einer statischen Atmosphäre gewonnenen Effluvia ein wesentlich höherer Anteil an Alkoholkomponenten, der Z11-14:Ac- Anteil sinkt von 77% auf 10% (Tab. 1).

1.4. Diskussion

Wie die Ergebnisse der chemischen Analyse zeigen, enthalten Pheromondrüsen und Effluvia von *C. pronubana* neben den bereits bekannten Komponenten E11-14:Ac, Z11-14:Ac, Z11-14:OH und Z11-14:Ald (Descoins et al., 1985) vierzehn weitere, chemisch verwandte Substanzen (Tab. 1). Die Verbindung Z9-14:Ac wird dabei für *C. pronubana* erstmalig nachgewiesen. Für diese Komponente wurde bereits in den *Sensilla trichodea* der Männchenantenne eine spezifische Rezeptorzelle beschrieben (Priesner, 1979). Auch war bekannt, daß das Sexualpheromon von *Pandemis heparana*, das aus einer Mischung von Z11-14:Ac, Z9-14:Ac und Z11-14:OH besteht, auch für *C. pronubana* attraktiv ist (Frérot et al., 1982).

Z9-14:Ac ist bei einer Reihe von Tortriciden als Pheromonkomponente nachgewiesen (Arn et al., 1986). Das gemeinsame Auftreten von Z11-14:Ac, E11-14:Ac, Z11-14:OH und Z9-14:Ac ist für Tortriciden jedoch ungewöhnlich, und nur in der Gattung *Adoxophyes* bekannt (Noguchi et al., 1985, Guerin et al. 1986).

Das doppelt ungesättigte Acetat Z9,E11-14:Ac wurde für die Familie der Tortriciden im Rahmen dieser Untersuchung erstmals nachgewiesen; für diese Komponente existieren bei *Adoxophyes orana* spezifische Rezeptorzellen (Priesner, 1983). Das Vorkommen des Z11-14:Ald bei *C. pronubana* (Descoins et al., 1985) konnte zwar bestätigt werden, allerdings beträgt der proportionale Anteil des Aldehyds nicht 10%, sondern nur etwa 0.1%. Es fanden sich zudem keine Hinweise auf die Produktion des *E*- Isomers. Da die von Descoins et al. (1985) untersuchten Drüsenextrakte bis zur Analyse über längere Zeit hinweg aufbewahrt wurden, liegt die Vermutung nahe, daß es sich um ein Zersetzungsprodukt der Hauptkomponente Z11-14:Ac oder des Z11-14:OH handelt. Der Aldehyd könnte nicht nur in den Drüsenextrakten, sondern auch beim Verdampfen des Lösungsmittel auf dem Ross-Injektor kurz vor der gaschromatographischen Analyse entstehen (s. a. Buser und Arn, 1975). Es gibt darüberhinaus keinen Hinweis auf seine Verhaltensaktivität bei *C. pronubana* (Descoins et al., 1985). Innerhalb der Tortriciden wurden nur bei *Choristoneura fumiferana* und *Choristoneura orae* (Silk et al., 1980, Gray et al., 1984) sowohl Z11-14:Ac und E11-14:Ac, als auch die beiden analogen Aldehyde in den Weibchendrüsen identifiziert.

Überraschenderweise ergaben sich keine wesentlichen Unterschiede zwischen den 1-minütigen und 6-stündigen Drüsenextrakten, selbst die Menge der Hauptkomponente kann nicht durch längere Extraktion gesteigert werden (Frérot, unveröff.); diese führt offensichtlich nur zur Lösung weiterer Gewebesubstanz und damit zu einer zunehmenden Belastung der Probe. Es scheint empfehlenswert, die Drüsen nur kurze Zeit im Lösungsmittel zu belassen und den Extrakt rasch zu verarbeiten.

Die Proportionen des in der Drüse produzierten und emittierten Gemischs unterscheiden sich nur unwesentlich (Tab. 1). Mit Ausnahme des Z11-16:Ac (0.1%) sind alle aus der Drüse extrahierten Komponenten auch in den Effluvia nachgewiesen. Es besteht kein Grund zur Annahme, daß die letztgenannte Substanz nicht von den Weibchen abgegeben wird, der Nachweis war vermutlich nur auf Grund der geringen Menge und des geringeren Dampfdrucks der Verbindung nicht möglich.

Wie Tab. 1 zeigt, fällt der Z11-14:Ac- Anteil bei Kondensation der *C. pronubana*- Effluvia in einem geschlossenen Glasbehälter von 78% auf 10%, der Z11-14:OH-Anteil steigt von 6% auf 68%. Vermutlich wird der Alkohol stärker als das Acetat auf der Glasoberfläche des Behälters adsorbiert (s. Abb. 2, Abschnitt 2, sowie Baker et al., 1980), während das flüchtigere Acetat eher auf den Weibchen und Flügelschuppen kondensiert: Ramaswamy und Cardé (1984) geben die Adsorptionsrate von Pheromonkomponenten auf Weibchen in einem geschlossenen Glasbehälter mit 75% an. Die enzymatische Zersetzung von Pheromonprodukten auf der Kutikula ist beschrieben (Ferkovich, 1982, Loneragan, 1986, Vogt and Riddiford, 1986). Eine hydrolytische Zersetzung von Acetat- zu Alkoholkomponenten ist für *Choristoneura pinus pinus* bekannt (Silk et al., 1985).

Bei einer Reihe von Lepidopteren findet sich eine Diskrepanz zwischen den aus Drüse und Effluvia nachgewiesenen Komponenten. Manche, dem mengenmäßigen Anteil nach bedeutende Komponenten wurden nur in Drüsenextrakten, nicht aber in den Effluvia nachgewiesen. In vielen Fällen weisen die Mengenverhältnisse der Substanzen in Drüsen und Effluvia große Unterschiede auf (McDonough und Kamm, 1979, Silk et al., 1980, Cory et al., 1982, Löfstedt et al., 1982, Silk et al., 1982, Bjostad et al., 1984, Datterman et al., 1984, Silk et al., 1985, Teal et al., 1985, Tumlinson et al., 1986). Dies kann sicherlich in manchen Fällen auf die Methode der Extraktion der Effluvia zurückgeführt werden.

Die Divergenzen zwischen Effluvium und Drüsenextrakten beruhen jedoch nicht immer auf der Methodik zur Adsorption der Effluvia. Bei *Heliothis virescens* findet an der Drüsenoberfläche eine enzymatische Transformation der in der Drüse produzierten Alkoholkomponenten zu den analogen Aldehyden statt (Teal und Tumlinson, 1986). Die Alkoholkomponenten

haben bei dieser Art auf das Männchenverhalten keinen Einfluß, dagegen sind die unmittelbar vor der Abgabe entstehenden analogen Aldehyde für die Auslösung der Verhaltenssequenz beim Männchen unerlässlich (Vetter and Baker, 1984, Teal et al., 1986) und spielen zudem eine wichtige Rolle bei der Artabgrenzung (Klun et al., 1980 a, 1980 b, 1982).

Bei *Mamestra brassicae* wird Z11-16:OH in der Drüse produziert und vor der Emission auf der Drüsenoberfläche zum Z11-16:Ac acetyliert (Bestmann et al., 1987). Z11-16:OH wurde als starker Attraktionsinhibitor für *Mamestra brassicae* beschrieben (Struble et al., 1980), für den Alkohol wurde zudem eine spezifische Rezeptorzelle auf den Männchenantennen von *Mamestra brassicae* nachgewiesen (Priesner, 1979).

Bei *C. pronubana* werden im Gegensatz dazu, wie der Vergleich von Drüsenextrakten und Effluvia zeigt, alle produzierten Komponenten vom lockenden Weibchen abgegeben.

2. Messung der von individuellen Weibchen abgegebenen Pheromonkomponenten

2.1. Einleitung

Im vorhergehenden Abschnitt waren Drüsenextrakte und Effluvia einer größeren Zahl von Weibchen untersucht worden, um auch den Nachweis von in geringen Mengen produzierten NebenkompONENTEN zu ermöglichen. Dieser Abschnitt beschreibt nun die inter- und intra-individuelle Variation der Emission der fünf wichtigsten Pheromonkomponenten.

Für die Messung der Pheromonabgabe individueller Weibchen war es nötig, ein effizientes Verfahren zur Adsorption der Effluvia zu entwickeln. Von lockenden Schmetterlingsweibchen abgegebenes Pheromon wurde in der Vergangenheit meist mit Hilfe von Trägern wie Porapak Q oder Tenax, Glaswolle oder Aktivkohle adsorbiert (Golub und Weatherston, 1984). Sogar kleine Mengen dieser Trägersubstanzen besitzen große Oberflächen in Hinblick auf die Menge des von den Weibchen emittierten Pheromons. Die Elution der adsorbierten Verbindungen von diesen Trägermaterialien kann Kontamination und den Verlust von Pheromon zur Folge haben. In der Literatur beschriebene Methoden zur Bestimmung der Pheromonemission individueller Weibchen waren somit oft auf Messung der Hauptkomponente sowie auf längere Meßperioden (≥ 30 Minuten) beschränkt.

Baker et al. (1980) demonstrierten die Verwendung von Glasoberflächen für die effiziente Adsorption von Pheromonen. Die Adsorption in Glaskapillaren ermöglicht Desorption des Pheromons mit kleinsten Mengen von Lösungsmittel, ohne vom Trägermaterial her Verunreinigungen einzuführen (Shani und Lacey, 1984). Das Abdampfen von überschüssigem Lösungsmittel, das meist mit weiteren Substanzverlusten verbunden ist, wird dadurch überflüssig; dies ermöglicht zudem die unmittelbare gaschromatographische Analyse der Proben. Bei den für die Adsorption von Weibcheneffluvia von Sower et al. (1971) und Baker et al. (1981) entwickelten Methoden wurden die Weibchendrüsen durch Druck auf das Abdomen künstlich exponiert. Diese Technik wurde von mehreren Autoren benutzt, um auch die minoritären Komponenten des Weibcheneffluviiums zu messen (Pope et al., 1982, Haynes et al. 1984, Du et al., 1987). In der Literatur sind aber auch verschiedene andere Methoden zur Messung der Effluvia beschrieben, bei denen die Weibchen die natürliche Rufposition einnehmen (Bjostad et al., 1980, Charlton und Cardé, 1982, Shani und Lacey, 1984, Schal und Cardé, 1985).

Die detaillierte Untersuchung der Pheromonemission individueller Weibchen des Nelkenwicklers stellte eine wichtige Voraussetzung für die Interpretation der Verhaltensantwort der Männchen auf die vom Weibchen abgegebenen Pheromonkomponenten dar. Im Vordergrund stand dabei einerseits die Frage nach der zeitlichen Konstanz der Zusammensetzung des Effluviums einzelner Weibchens, sowie andererseits der Nachweis möglicher interindividueller Unterschiede.

2.2. Material und Methoden

Apparatur. Die Messung der von den rufenden Weibchen abgegebenen Pheromonkomponenten wurde mit einer Methode vorgenommen (Witzgall, 1987), die wichtige Gesichtspunkte der von Shani und Lacey (1984) und Charlton und Cardé (1982) beschriebenen Apparaturen vereinte. Das Weibchen befand sich in einem spindelförmigen Glasbehälter (5 cm Länge, 2 cm Ø), der durch einen Glasschliff in zwei Teile zerlegbar war. Das rufende Weibchen saß in diesem Behälter auf einem Metallgitter (0.5 cm x 1 cm), das mit einem Draht im oberen Teil des Behälters befestigt war. Die exponierte Drüse war in unmittelbarer Nähe (< 1 cm) der unteren, windabwärts gelegenen Öffnung. Eine Glaskapillare (15 cm Länge, 1 mm ID) war an diesem Auslauf befestigt (Abb. 2c). Ein konstanter, mit aktivem Kohlenstoff gereinigter Luftstrom (40 cm³/min) strich über das Weibchen in die Glaskapillare. Der untere Teil des Käfigs konnte während des Versuchs rasch ausgewechselt werden, ohne dabei das rufende Weibchen zu stören.

Vorversuche mit rufenden Weibchen und synthetischem Pheromon. Um die Effizienz dieser Methode zu bestimmen, wurden zunächst Messungen mit synthetischen Pheromonkomponenten unternommen. Dazu wurde eine Hexanlösung, die 10 ng Z11-14:Ac und 10 ng Z11-14:OH enthielt, auf das abgerundete, kugelförmige Ende eines Glasstabs aufgetropft. Nach dem Verdampfen des Lösungsmittels wurde die Pheromonquelle entweder auf dem Weibchenhalter befestigt oder direkt in den Glaskäfig gebracht. Der Abstand der Glaskugel zum Auslaß betrug dabei jeweils 1 cm (Abb. 2a, b). Diese Quelle wurde mit 30 µl Hexan (Merck, zur Rückstandsanalyse) nach einer 15-minütigen Exposition im Glasbehältnis gewaschen; der untere Teil des Glaskäfigs wurde vor und nach dem Versuch mit 20 µl Hexan gewaschen. Die obere, unmittelbar am Auslaß befindliche Hälfte (0-15 cm) einer Glaskapillare (30 cm Länge) wurde zweimal, die untere Hälfte einmal mit 5 µl Hexan gewaschen. Das dabei gelöste Z11-14:Ac und Z11-14:OH wurde gaschromatographisch quantifiziert.

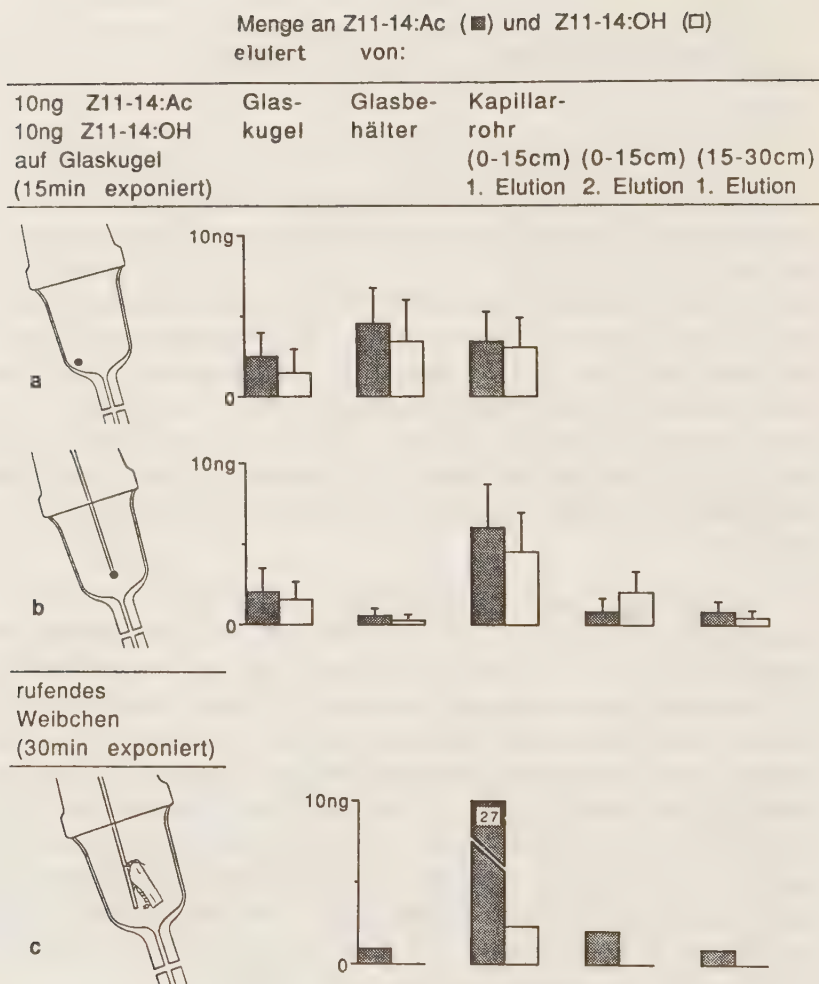


Abb. 2. Verteilung der Pheromonkomponenten Z11-14:Ac und Z11-14:OH in verschiedenen Teilen der Apparatur zur Messung der Pheromonemission. a, b: Synthetisches, auf eine Glaskugel appliziertes Pheromon. n=10. c: rufendes *C. pronubana* Weibchen.

Abb. 2a, b zeigt die Mengen an Z11-14:Ac und Z11-14:OH, die nach einer 15-minütigen Exposition der künstlichen Pheromonquelle in den verschiedenen Teilen der Versuchsanordnung nachgewiesen werden konnten. Die Adsorption synthetischen Pheromons im unteren Teil des Behälters betrug 4.7 ± 2.2 ng ($n=10$), wenn der künstliche Dispenser die Glasoberfläche berührte. Bei den Versuchen, bei denen der Dispenser am Metallträger befestigt war, war die im Behälter bestimmte Menge nie größer als 1 ng (10%), während die in der Kapillare nachgewiesene Menge entsprechend anstieg. Diese Ergebnisse und die Beobachtung, daß rufende Weibchen für lange Zeit dieselbe Stellung einnehmen führten zum Entwurf der in Abb. 2c abgebildeten Apparatur.

Mit einer ersten Elution mit 5 µl Hexan wurde, verglichen mit Z11-14:Ac, immer etwas weniger Z11-14:OH nachgewiesen. Bei einer nachfolgenden, zweiten Elution konnte vergleichsweise mehr Alkohol nachgewiesen werden (Abb. 2). Deshalb wurde eine 5 µl Hexanlösung mit 10 ng Z11-14:Ac und 10 ng Z11-14:OH direkt in die Kapillare injiziert. Nach Verdampfen des Lösungsmittels wurden beide Komponenten in einem Verhältnis von 85:74 (8.5 ± 0.7 ng, 7.4 ± 0.6 ng, $n=10$) rückgewonnen. Dies deutet auf eine stärkere Adsorption des Alkohols auf der Glasoberfläche des Weibchenbehälters hin. Die Kühlung der Glaskapillare hatte keinen Einfluß auf die Rückgewinnungseffizienz der beiden Komponenten. Aus silanisierten Kapillaren wurde unwesentlich mehr Z11-14:OH eluiert, für die Versuche mit rufenden Weibchen wurden jedoch unbehandelte Kapillaren benutzt.

Bei allen Vorversuchen, bei denen rufende Weibchen direkt auf der Oberfläche des Glasbehälters saßen, konnten in den Kapillaren nie mehr als 3 ng Z11-14:Ac während 15-minütiger Meßperioden nachgewiesen werden. Selbst 1 h nach Entfernen des rufenden Weibchens aus dem Behälter konnte immer noch Pheromon in der Kapillare gemessen werden. Dies war vermutlich auf sekundäre Desorption von Pheromon von der Glasoberfläche des Weibchenkäfigs zurückzuführen. Zudem konnten die minoritären Komponenten Z9-14:Ac, E11-14:Ac, 14:Ac und Z11-14:OH nur zu Zeiten maximaler Pheromonemission nachgewiesen werden. Hingegen wurden bis zu 24.5 ng Z11-14:Ac während 15-minütiger Exposition gemessen, wenn die Weibchen auf das Metallgitter in der Käfigmitte gesetzt wurden. Die aus dem unteren Teil des Behälters eluierte Pheromonmenge betrug immer weniger als 5% der in der Kapillare gemessenen Menge (Abb. 2c).

Messung der Weibchenemission. Die tagaktiven Nelkenwickler schlüpfen meist während der Scotophase und beginnen während der nachfolgenden Photophase zu locken. Die Weibchen heben dabei den Hinterleib leicht an und exponieren die Pheromondrüse. Die

Pheromonemission von zehn Weibchen wurde während der 1., 3. und 5. Photoperiode nach dem Schlüpfen über die ganze Rufperiode hinweg gemessen. Dazu wurden die Weibchen 60 bis 90 min nach Beginn der Photoperiode vorsichtig auf das Drahtgestell gesetzt. Die Weibchen nahmen etwa 30 bis 60 min später die typische "Rufposition" ein und verblieben während der ganzen Rufperiode auf dem Drahtgitter. Weibchen, die am dritten oder fünften Tag nicht mehr lockten, wurden nicht berücksichtigt. Das Rufverhalten wurde alle 15 Minuten beobachtet. Das abgegebene Pheromon wurde zweimal stündlich während 15-minütiger Meßintervalle (0- 15'; 30-45') in 15 cm langen Glaskapillaren aufgefangen. Die Kapillaren wurden unmittelbar mit 5 µl Hexan gewaschen, das Eluat wurde sofort am Gaschromatographen injiziert. Die Peakhöhen der im ersten Eluat der Röhren (mit 5 µl Hexan) enthaltenen Pheromonkomponenten dienten der Bestimmung der Emissionsrate. Das verwendete Hexan enthielt 5 ng 12:OH und 5 ng Z9,E12-14:Ac als internen Standard. Eine Varianzanalyse der zurückgewonnenen 12:OH- und Z9,E12-14:Ac-Mengen zeigte keine signifikanten Unterschiede zwischen den Messungen mit verschiedenen Weibchen. Alle dargestellten Werte entsprechen deshalb den Originaldaten und wurden nicht mit Hilfe des Standards angeglichen. Die Glaskapillare wurden nur einmal verwendet, der untere Teil des Glasbehälters wurde stündlich ausgewechselt.

Zur statistischen Analyse wurden die Integrale der Emissionsraten einer jeden Komponente für den Verlauf jeder Rufperiode bestimmt, da die unmittelbar aufeinanderfolgende Einzelmessungen nicht als unabhängige Variable angesehen werden können. Um zwischen den einzelnen Weibchen mögliche Unterschiede der Verhältnisse der Abgaberaten von zwei Komponenten festzustellen, wurden die Integrale der emittierten Mengen mit Hilfe eines Kruskal-Wallis Test verglichen (Zar, 1984).

GC-Analyse. Die Eluate der Kapillare wurden unmittelbar in einen Girdel 3000 Gaschromatographen mit Ross Injektor und FID Detektor (250 °C) injiziert. Der Gaschromatograph war für diese Messungen mit einer Silica-Kapillarsäule ("fused silica column") ausgerüstet (CPWax 57CB, 25m, 0.22 mm ID). Als Trägergas wurde Helium benutzt, die Säulentemperatur betrug konstant 150°C.

2.3. Ergebnisse

Abgaberaten. Für die zehn Weibchen, die am 1., 3., und 5. Lebenstag untersucht wurden, ergab die Messung des Z11-14:Ac in der 15 cm langen Kapillare eine durchschnittliche Abgaberate von 0.45 ± 11 ng/min pro Rufperiode. Das beobachtete zeitliche Muster der Emission war für alle fünf einzelnen Pheromonkomponenten ähnlich: Die Abgaberaten waren maximal zu Beginn der Lockperiode. In allen Fällen ging die Abgaberate gegen das Ende der Rufperiode zurück und sank sofort auf Null, wenn die Weibchen aufhörten die typische Lockposition einzunehmen. Vor Beginn und nach Ende der Lockphase konnte keine Pheromonemission festgestellt werden.

Ein typischer Tagesverlauf der Pheromonabgabe eines einzelnen Weibchen ist in Abb. 3 gezeigt. Es sei betont, daß Pheromonemission und Exposition der Drüse streng korreliert waren. Die fortlaufende Beobachtung des Rufverhaltens zeigte, daß die Weibchen manchmal nach Perioden besonders hoher Pheromonabgabe 30 bis 60 min lang die Drüse leicht einziehen und den Hinterleib weniger stark anheben. Ein derartiges, teilweises Einziehen der Drüse hatte immer einen starken Rückgang der Emission zur Folge (Abb. 3). Allerdings ging die Abgabe zwischen Beginn und Ende der Rufperiode nie vollständig zurück.

Abgabeproportionen. Die durchschnittliche relative Zusammensetzung des von den zehn Weibchen abgegebenen Bouquets der Pheromonkomponenten Z11-14:Ac, E11-14:Ac, Z9-14:Ac, 14:Ac, und Z11-14:OH betrug 82: 5: 1: 5: 7. Unabhängig von der zeitlichen Variation der Gesamtabgabe waren die Schwankungen der Abgabeproportionen der Einzelkomponenten für individuelle Weibchen erstaunlich gering. Abgesehen von methodisch bedingten Fehlern, die vor allem bei den in nur kleinen Mengen abgegebenen Komponenten (Z9-14:Ac, E11-14:Ac) ins Gewicht fallen, gab ein bestimmtes Weibchen die einzelnen Komponenten über drei Rufperioden hinweg in einem konstanten Verhältnis ab. Bei manchen Weibchen waren jedoch, vor allem am Lebensende, während der fünften Rufperiode leichte Veränderungen in der Zusammensetzung des emittierten Pheromongemisches erkennbar. So scheint der der Z11-14:OH-Anteil gegen Ende der Lockphase leicht zuzunehmen (s. Abschnitt 3, Abb. 7).

Diese individuelle Konstanz der Pheromonemission steht in starkem Gegensatz zur beträchtlichen interindividuellen Variation der Proportion zwischen Z9-14:Ac und den Δ 11-Komponenten: So variierte zB. das Z9-14:Ac/E11-14:Ac-Abgabeverhältnis (Abb. 4b) von 0.04

bis 1.17. Eine nicht-parametrische Varianzanalyse (Kruske-Wallis-Test; $p=0.05$) ergab, daß nicht nur das Verhältnis von Z9-14:Ac zu E11-14:Ac, sondern auch das Verhältnis von Z9-14:Ac zu Z11-14:Ac wie auch zu Z11-14:OH zwischen den einzelnen Weibchen signifikante Unterschiede aufwies.

Andererseits zeigten die Abgabeverhältnisse zwischen den $\Delta 11$ -Komponenten Z11-14:Ac, E11-14:Ac und Z11-14:OH keine signifikanten Unterschiede auf. So variierten zB. die Z11-14:Ac/Z11-14:OH-Proportion zwischen den zehn Weibchen nur von 0.06 bis 0.11 (Abb. 4a). In diesem Fall war das tatsächliche Abgabeverhältnis sicher etwas höher als das gemessene, da mit Hexan vergleichsweise weniger Alkohol als Acetat von der Glasoberfläche eluiert wird (Abb. 2a, b). Für das 14:Ac/Z9-14:Ac-Emissionsverhältnis konnten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede nachgewiesen werden.

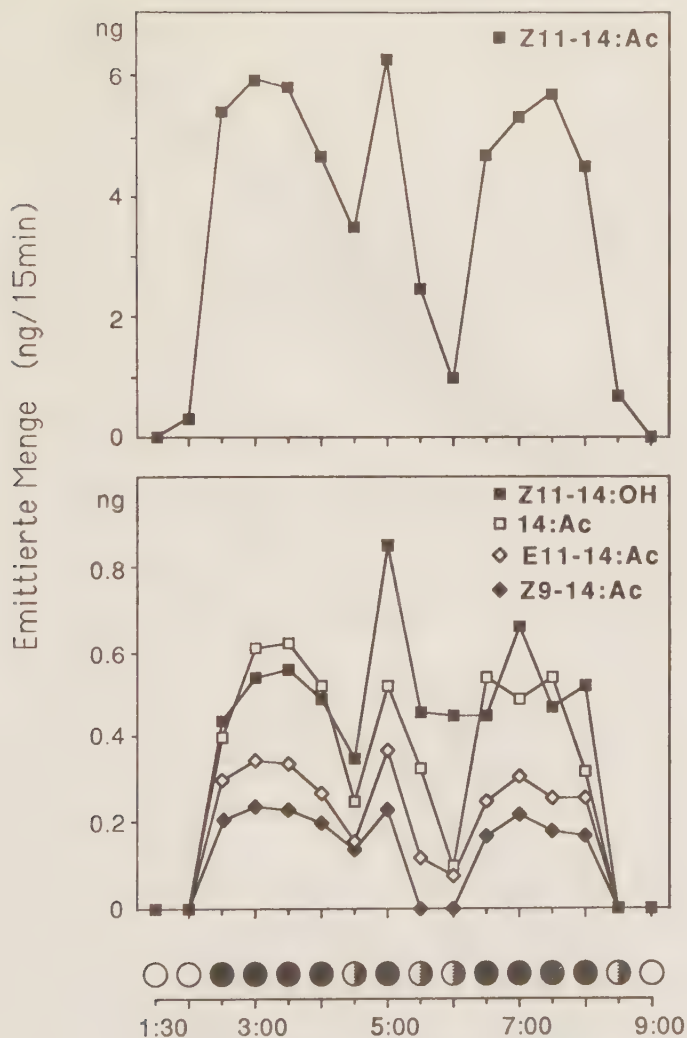


Abb. 3. Pheromonemission eines individuellen *C. pronubana*- Weibchens. Die Emission wurde über die ganze Ruheperiode hinweg zweimal pro Stunde 15 min lang gemessen. Die Kreise an der untersten Achse zeigen das Lockverhalten des Weibchens zu Beginn eines jeden Meßintervalls. Vollkreis: voll exponierte Pheromondrüse, der Hinterleib ist weit abgehoben. Halbkreis: Drüse und Hinterleib weniger exponiert. Leerkreis: Drüse nicht sichtbar, der Hinterleib ruht auf dem Träger.

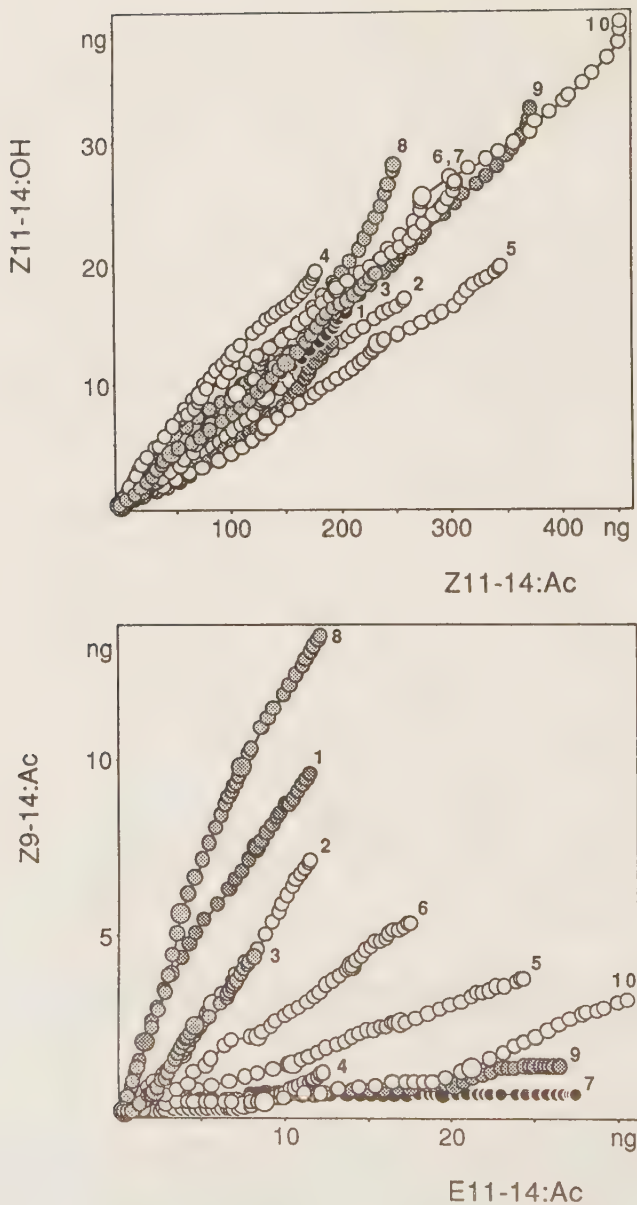


Abb. 4. Abgabe der Pheromonkomponenten (a) Z11-14:Ac, Z11-14:OH und (b) E11-14:Ac, Z9-14:Ac durch zehn individuelle *C. pronubana* Weibchen während drei Ruferperioden am 1., 3., und 5. Lebenstag. Die einzelnen Meßwerte (je 15 min) wurden über drei Ruferperioden hinweg aufsummiert. Die grösseren Kreise zeigen die erste Messung jeder Ruferperiode an.

2.4. Diskussion

Mit der hier beschriebene Methode zur Messung der Weibcheneffluvia war es möglich, während kurzer Meßintervalle fünf Einzelkomponenten des Drüsensekrets individueller *C. pronubana*-Weibchen zu messen. Eine Mischung von vier dieser fünf Komponenten löst bei männlichen Faltern die gesamte sexuelle Verhaltenssequenz aus, wie sie sonst nur in Reaktion auf lockende Weibchen beobachtet wird (s. Abschnitt 4).

Eine quantitative Erfassung der NebenkompONENTEN während 15-minütiger Meßintervalle war nur nach einer Modifikation des von Shani und Lacey (1984) beschriebenen Systems möglich. Erst als das Weibchen auf einen Halter innerhalb des Glaskäfigs gesetzt wurde (siehe Bjostad et al. 1980), stieg die in der Glaskapillare adsorbierte Menge an Pheromon wesentlich an. Das emittierte Pheromon würde sonst im Glasbehälter (Abb. 2a, b) oder sogar auf dem Weibchen selbst adsorbiert werden (Baker et al., 1980, Ramaswamy und Cardé, 1984). Zudem beeinflußt die sekundäre Desorption von zunächst im Glasbehälter adsorbiertem Pheromon die nachfolgenden Messungen.

In den vorliegenden Versuchen konnte Pheromon nur nachgewiesen werden, wenn die Weibchen die typische Lockposition einnahmen (Abb. 2c). Eine ähnliche Korrelation zwischen Rufverhalten und Pheromonabgabe wurde auch für *Trichoplusia ni* (Bjostad et al., 1980), *Choristoneura fumiferana* (Ramaswamy und Cardé, 1984), *Ephestia cautella* (Barrer et al., 1987) und *Holomelina lamae* (Schal et al., 1987) beschrieben. Überraschenderweise zeigte auch die Pheromonabgabe künstlich exponierter Pheromondrüsen von *Heliothis virescens* (Pope et al., 1982) oder *Platyptilia carduidactyla* (Haynes et al., 1983) einen diskreten Tagesrhythmus, der dem frei rufender Weibchen vergleichbar war. Daraus folgt offensichtlich, daß Drüsenexposition und Verfügbarkeit von Pheromon in der Drüse lediglich gleichzeitig auftreten. Drüsenextrakte von individuellen *C. pronubana* Weibchen enthielten bis zu 100 ng Z11-14:Ac zu Beginn, aber nur wenige ng gegen Ende der Rufperiode (s. Abschnitt 3, Abb. 5). Raina et al. (1987) wiesen für *Heliothis zea* die Existenz eines Neurohormons nach, welches die Produktion von Pheromon induziert. Bei *Lymantria dispar*-Weibchen werden Rufverhalten und Pheromonabgabe unabhängig voneinander von Gehirn und terminalem Abdominalganglion gesteuert (Hollander und Yin, 1982).

Das individuelle Mischungsverhältnis der abgegebenen Komponenten war bei allen Weibchen über drei Rufperioden hinweg erstaunlich konstant (Abb. 4). Dies stimmt mit

Befunden bei *Ephestia cautella* (Barrer et al., 1987) und *Yponomeuta padellus* (Du et al., 1987) überein. Zusätzlich zu dieser bemerkenswerten individuellen Konstanz der relativen Pheromonzusammensetzung ließ sich keine signifikante, interindividuelle Variation der Abgaberaten der $\Delta 11$ -Komponenten ($E11/Z11-14:Ac$, oder $Z11-14:Ac/Z11-14:OH$ (Abb. 4a), oder $E11-14:Ac/Z11-14:OH$) feststellen.

Eine erstaunlich geringe Variation des emittierten $E11/Z11-14:Ac$ -Verhältnisses bei *Argyrotaenia velutinana*-Weibchen (Miller und Roelofs, 1980) ist mit einem gemeinsamen Biosyntheseweg dieser beiden Komponenten zu erklären (Bjostad und Roelofs, 1981). Nachdem funktionelle Gruppen von Pheromonkomponenten ohne weiteres in der Drüse bzw. an der Drüsenoberfläche umgebaut werden können (Morse und Meighen, 1986, Teal und Tumlinson, 1986, 1987, Wolf und Roelofs 1987), ist anzunehmen, daß auch die Biosynthese des $Z11-14$ -Alkohols und der $\Delta 11-14$ -Acetate nach dem gleichen Schema abläuft.

Sehr auffällig war jedoch die starke interindividuelle Variation der $Z9/\Delta 11$ -Proportionen (zB. $Z9/E11-14:Ac$, Abb. 4b). Diese deutliche Variation des Mischungsverhältnisses stimmt gut mit den Ergebnissen der Windkanalversuche überein, bei denen *C. pronubana*-Männchen mit einer großen Anzahl verschiedener $Z9/\Delta 11$ -"blends" angelockt werden konnten. (s. Abb. 9, 10). Eine ähnlich große Variation der $Z9/E11-14:Ac$ -Proportionen wurde für Drüsenextrakte einer anderen Tortricidenart, *Adoxophyes orana* beschrieben (Guerin et al., 1986 a). Dies scheint darauf hinzuweisen, daß die biosynthetische Produktion des $Z9-14:Ac$ von den $\Delta 11-14$ -Komponenten unabhängig ist. Die Biosynthese von $Z9-14:Ac$ und $Z11-14:Ac$ unterscheidet sich bei Weibchen von *Trichoplusia ni* wenigstens in den letzten Reaktionsschritten (Bjostad et al., 1984).

Die Bedeutung des $E11/Z11$ -Verhältnisses für die Artabgrenzung bei Tortriciden ist seit langem hinreichend belegt. Eine kürzlich verfaßte Liste der für Lepidopteren beschriebenen Sexualpheromone (Arn et al., 1986) führt allein für die Familie der Tortriciden 52 chemisch identifizierte Pheromone auf, die $Z11-14:Ac$ enthalten. Bei 37 dieser Arten enthält das Pheromon zusätzlich $E11-14:Ac$. Es sind jedoch erst fünf Arten bekannt, welche die drei, bei *C. pronubana* identifizierten Pheromonkomponenten $E11/Z11-14:Ac$ und $Z11-14:OH$ produzieren. Die Artabgrenzung dürfte mit Hilfe dieser drei Komponenten, die in sehr konstanten Proportionen abgegeben werden, hinreichend gesichert sein. Die festgestellte Variation der $Z9-14:Ac$ -Produktion führt zu einer innerartlichen Vielfalt des Pheromonsignals, deren mögliche Funktion später diskutiert wird (s. Abschnitt 4).

3. Bestimmung des tageszeitlichen Rhythmus von Produktion und Emission der Pheromonkomponenten

3.1. Einleitung

Die Abgabe des Sexualpheromons ist bei *C. pronubana* einer tageszeitlich streng begrenzten Periodik unterworfen (s. Abb.3). Ein derartiger endogener Rhythmus der Pheromonabgabe ist für viele Lepidopterenarten belegt. Beginn und Dauer der Lockperiode werden stark von exogenen Faktoren wie Temperatur und Licht (Cardé und Roelofs, 1973, Marks 1976, Baker und Cardé, 1979 a, Castrovillo und Cardé, 1979, Schal und Cardé, 1986, Deslisle und McNeil, 1987 b, Gerber und Howlader, 1987) beeinflusst. Unterschiede des Tagesgangs der Pheromonemission zwischen nahe verwandten Arten können einen wichtigen Isolationsfaktor darstellen (Teal et al., 1978, Haynes und Birch, 1986, Snir et al., 1986).

Die Emission von Pheromon ist bei *C. pronubana* (Abb. 3) und weiteren Arten eng mit dem Lockverhalten des Weibchens korreliert: Nur bei Exposition der Lockstoffdrüse durch das lockende Weibchen werden meßbare Pheromonmengen emittiert. Werden Drüsen künstlich exponiert, ist allerdings ebenfalls eine zeitlich begrenzte Emissionsphase zu beobachten, die der natürlichen Lockphase des Weibchens entsprechen würde (Pope et al., 1982, Haynes et al., 1983).

Für das tiefere Verständnis des Zusammenhangs zwischen Pheromonproduktion und -emission bei *C. pronubana* war es notwendig, einerseits den Tagesverlauf der Pheromonproduktion zu bestimmen und andererseits für die zeitlich begrenzte Lockperiode Drüseninhalt und Abgaberaten zu vergleichen.

Bisherige Untersuchungen hatten sich in Anbetracht der beträchtlichen experimentellen Schwierigkeiten, die Emission von Pheromonkomponenten zu messen, meist darauf beschränkt, dem tageszeitlichen Rhythmus der Drüsenproduktion das Lockverhalten der Weibchen gegenüberzustellen (Sower et al., 1972, Webster und Cardé, 1982, Konno, 1986, Raina et al., 1986, Snir et al., 1986, Deslisle und McNeil, 1987 a, Dunkelblum et al., 1987). Bei den wenigen vergleichenden Messungen von Produktion und Emission wurde, bedingt durch geringe Emissionsraten der Sekundärkomponenten, meist nur die Hauptkomponente berücksichtigt (Bjostad et al., 1980, Morse et al., 1982). Lediglich bei *Heliothis virescens* (Pope et al.,

1982) und *Holomelina lamae* (Schal et al., 1987) wurden auch die minoritären Komponenten erfaßt.

Individuelle *C. pronubana*-Weibchen geben während der ganzen Lockphase die Einzelkomponenten in sehr konstanten Proportionen ab (Abb. 3). In Abschnitt 1 war auf Grund von Extrakten zahlreicher Weibchen gezeigt worden, daß zumindest zu Beginn der Lockphase die Proportionen des Komponentengemisches in Drüse und Effluvium weitgehend übereinstimmen (Tab. 1). Es soll nun gefragt werden, ob diese Übereinstimmung während der ganzen Lockperiode gilt, und ob sich die Proportion des Komponentengemisches in der Drüse mit Beginn und Beendigung der Lockphase verändert.

3.2. Material und Methoden

Insekten. Die Versuchstiere wurden einzeln in Plastikbehältern (200 ml) bei einer 14:10 Licht:Dunkel Photoperiode aufbewahrt und mit einer 2%-igen Zuckerlösung gefüttert. Die Weibchen von *C. pronubana* schlüpfen meist zu Beginn der Scotophase, manchmal aber auch bereits gegen Ende der Photophase. Der Beginn der darauffolgenden Scotophase wurde deshalb für alle Weibchen als Beginn des ersten, bzw. eines neuen Lebenstages angenommen.

Drüsenextrakte. Zu Beginn jeder vollen Stunde wurden über 24 Stunden hinweg Drüsenextrakte von jeweils zehn individuellen, drei und fünf Tage alten Weibchen bereitet. Die erste Messung des Tageszyklus fand zu Beginn der Scotophase ($D=0$) statt. Die Drüsen der Weibchen wurden nach der in Abschnitt 1.2. beschriebenen Methode präpariert. Individuelle Drüsen wurden in Glasfläschchen mit konischen Böden eine Minute lang mit 10 μ l Hexan (Merck, zur Rückstandsanalyse) extrahiert. Dem Lösungsmittel wurden 5 ng 12:OH und 5 ng Z9, E12-14:Ac als interner Standard zugefügt, das Lösungsmittel sofort mit einer Spritze aufgenommen und am Gaschromatographen analysiert (Girdel 300; polare Säule: CPWax, 57 CB, 25 m, 0.22 ID; Temperaturprogrammation von 140 °C bis 240 °C, bei 2 °C/min; s. a. Abschnitt 1.2.). Mit einem Intersmat Integrator wurden 14:Ac, Z9-14:Ac, E11-14:Ac, Z11-14:Ac und Z11-14:OH entsprechend der Peakfläche quantifiziert. Weitere, in den individuellen Extrakten auftretende Komponenten (Z9, E11-14:Ac, E11-14:OH) wurden nicht berücksichtigt, da sie, besonders bei fünf Tage alten Weibchen und gegen Ende der Lockphase, nicht immer in quantifizierbaren Mengen auftraten.

Beobachtung des Rufverhaltens der untersuchten Weibchen. Alle zehn Weibchen, deren Pheromonemission gemessen wurde (Abschnitt 2), hatten zwischen der zweiten ($L=2$) und der dritten ($L=3$) Stunde der Photophase zu locken begonnen. Am dritten Lebenstag hatten sie vor $L=10$, am fünften Tag vor $L=11$ die Lockphase beendet. Bei den für die Drüsenextrakte vorbereiteten Weibchen lockten jedoch manche auch außerhalb dieser Zeiten. Für den Vergleich von Pheromonproduktion und Emission (Abb. 5) war es somit notwendig, Dauer und Beginn des Lockverhalten der zu messenden Weibchen bis zum Zeitpunkt der Drüsenextraktion zu registrieren. Dazu wurden jeweils 30 bis 50 individuelle Weibchen in 30-minütigen Abständen beobachtet. Lockende Weibchen exponieren ihre Drüse und heben den Hinterleib leicht an.

Extrakte während der Photophase. Zu Beginn der Photophase wurden zum Zeitpunkt $L=0$ und $L=1$ nur nicht-lockende Weibchen, zum Zeitpunkt $L=2$ bis zum Ende der Lockphase nur solche Weibchen extrahiert, die zwischen $L=1$ und $L=2$ zu locken begonnen hatten. Für die Extraktion nach Ende der Lockperiode wurden nur Drüsen von Weibchen berücksichtigt, die zum einen 6 bis 7 Stunden lang (3 Tage), bzw. 7 bis 8 Stunden lang (5 Tage) gelockt hatten, zum anderen zwischen $L=9$ und $L=10$ (3 Tage) bzw. $L=10$ und $L=11$ (5 Tage) die Lockphase beendet hatten.

Extrakte während der Scotophase. Vor Beginn der Lockperiode wurden nur solche Weibchen extrahiert, die am Vortag 5 bis 7 Stunden (2. Tag) oder 6 bis 8 Stunden lang (4. Tag) gelockt hatten.

Weibcheneffluvia. Zum Vergleich von Produktion und Emission wurden die Ergebnisse der individuellen Weibcheneffluvia aus Abschnitt 2 herangezogen. Dazu wurden für jede Stunde der Lockphase die beiden 15-minütigen Meßintervalle addiert und mit zwei multipliziert. Für diese stündliche Emission wurde auch die Standardabweichung berechnet und zusammen mit dem Mittelwert der zehn gemessenen Weibchen in Abb. 5 dargestellt.

Statistik. Eine Varianzanalyse der am Gaschromatographen gemessenen Menge des im Lösungsmittel enthaltenen internen Standards, gefolgt von einem Tukey-Test (Zweiwegklassifikation; $p = 0.05$) ergab keine signifikanten Unterschiede für die zu verschiedenen Stunden gewonnenen Drüsenextrakte. Das gleiche gilt für die Messungen der Weibcheneffluvia (Abschn. 2.2). Die am Gaschromatographen quantifizierten Mengen der Pheromonkomponenten wurden deshalb nicht mit Hilfe des internen Standards modifiziert.

Beginn und Dauer der Lockphase bei Weibchen verschiedenen Alters wurden ebenfalls mit einer Zweiweg-Varianzanalyse verglichen (Tukey-Test; $p=0.05$).

Für den Vergleich der Proportionen der Komponenten in den Drüsen ist es nicht möglich, Unterschiede zwischen der relativen Zusammensetzung zu verschiedenen Zeiten auf eine bestimmte Komponente zurückzuführen: Der Anstieg des proportionalen Anteils einer Komponente im Gemisch führt zwangsläufig zur Abnahme des proportionalen Anteils aller anderen Komponenten. Des weiteren ist auch hier das Kriterium der Unabhängigkeit der stündlich aufeinanderfolgenden Messungen nicht gegeben. Deshalb wurde lediglich die Nullhypothese geprüft, ob sich die Proportionen des Gemischs während der ersten und zweiten zwölf Stunden der Photoperiode unterscheiden (mod. χ^2 -Test zum Vergleich von Proportionen; $p=0.05$; Zar 1984).

3.3. Ergebnisse

Pheromongehalt von Drüsen und Effluvia. Abb. 5 zeigt die Menge der Hauptkomponente Z11-14:Ac in der Drüse zu Beginn einer jeden vollen Stunde, zusammen mit dem approximateden Wert für die stündliche Emission dieser Komponente, bei drei und fünf Tage alten Weibchen. Für den ganzen Tagesverlauf wurden stündlich zehn individuelle Weibchendrüsen extrahiert, die Emissionswerte beziehen sich auf individuelle Messungen derselben zehn Weibchen (Abschnitt 2). (Für jedes Weibchen wurde die Emission zweimal fünfzehn Minuten lang gemessen, beide Messungen addiert und mit zwei multipliziert.)

Der Drüsengehalt ist während der gesamten Scotophase auf annähernd gleichbleibendem Niveau, die leichten Schwankungen in Abb. 5 sind auf die starken individuellen Unterschiede des Drüseninhalts einzelner Weibchen zurückzuführen. Zu Beginn der Photophase, unmittelbar vor Beginn der Lockphase ist ein starker Anstieg der Hauptkomponente (Abb.5), sowie aller Nebenkompontenten zu verzeichnen, unmittelbar nach Beginn der Lockphase fällt der Drüsengehalt stark ab. Demgegenüber geben die Weibchen über mehrere Stunden hinweg fast konstante Mengen der Hauptkomponente Z11-14:Ac ab, erst während des letzten Drittels der Lockperiode nimmt die emittierte Menge rasch ab. Außerhalb der Lockphase war keine Emission von Pheromon festzustellen (Abschnitt 2).

Einfluß des Weibchenalters. Der Drüseninhalt während der Scotophase ist bei drei Tage alten Weibchen deutlich höher als bei fünf Tage alten (Abb. 5, Tab. 2). Kurz vor Beginn der Lockperiode enthalten die Drüsen jedoch bei beiden Altersstufen ähnliche hohe Mengen an Z11-14:Ac, während der Lockphase fällt der Drüseninhalt gleichermaßen ab. Unabhängig vom altersspezifischen Drüseninhalt emittieren drei und fünf Tage alte Weibchen gleiche große Mengen an Z11-14:Ac, die Gesamtdauer der Lockperiode nimmt bei älteren ($d=3$, $d=5$) im Vergleich zu frischgeschlüpften Weibchen ($d=1$) signifikant zu (Abb. 6, Abb. 5, Tab. 2).

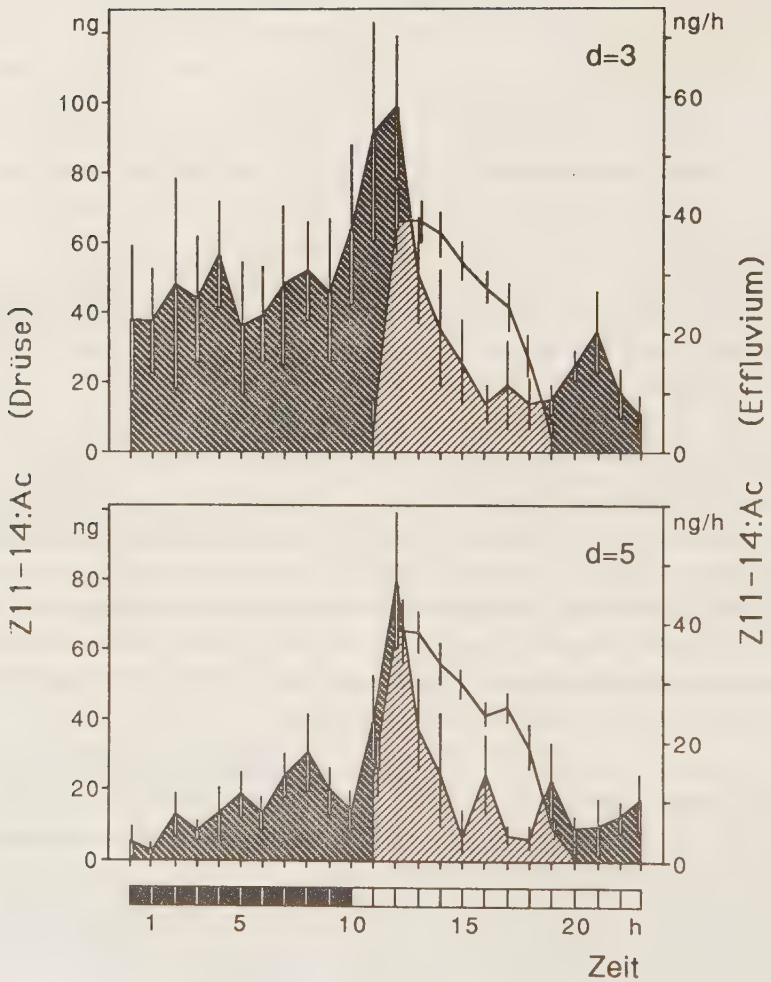


Abb. 5. Mittlere Menge der Hauptkomponente Z11-14:Ac pro Tier in Drüse (ng) und Effluvium (ng/h) von drei, bzw. fünf Tage alten *C. pronubana*-Weibchen im Verlauf der gesamten Photoperiode (14:10 L:D). Drüsenextrakte: Zehn einzelne Weibchen pro Meßpunkt. Effluvia: Verdoppelte Emission von zehn individuellen Weibchen während zwei 15-min Meßintervallen pro Stunde; bei allen Meßpunkten handelt es sich um dieselben Individuen (Daten wie in Abb. 4).

Proportionale Zusammensetzung von Drüseninhalt und Effluvia. Abb. 7 zeigt den relativen Anteil des Z11-14:OH in Drüsenextrakten und Effluvia bei drei Tage alten Weibchen im Verlauf der Photoperiode. Tab. 2b zeigt die gemittelte proportionale Zusammensetzung des Komponentengemischs während und außerhalb der Lockperiode. Die Anteile aller Einzelkomponenten in der Drüse sind im Verlauf der gesamten Scotophase weitgehend konstant (Abb. 7). Gegen Ende der Lockperiode hatte sich jedoch bereits in den Effluvia individueller Weibchen ein schwacher, statistisch nicht belegbarer Anstieg des Alkoholanteils abgezeichnet (Abb. 4a). Diese Tendenz wird nun durch den Vergleich des Alkoholanteils in den Drüsen lockender und nicht-lockender Weibchen bestätigt (Abb. 7). Tatsächlich ist die Proportion aller Komponenten in der Drüse während und außerhalb der Lockphase bei drei Tage alten, nicht aber bei fünf Tage alten Weibchen signifikant verschieden. Dieser Unterschied in der proportionalen Zusammensetzung ist, wie Tab. 2b zeigt, vor allem auf den Anstieg der Alkoholanteile im Gemisch zurückzuführen.

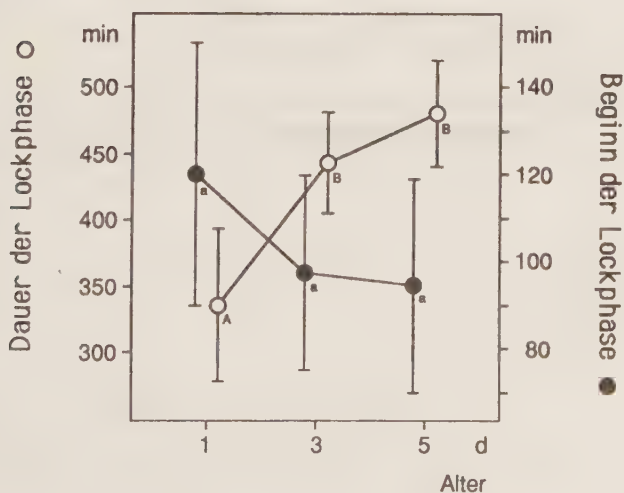


Abb. 6. Mittlerer Beginn (Vollkreis; min nach Beginn der Photoperiode) und Dauer (Leerkreis) der Lockperiode von zehn Weibchen, deren Drüsenemission in Abb. 5 dargestellt ist, in Abhängigkeit vom Alter.

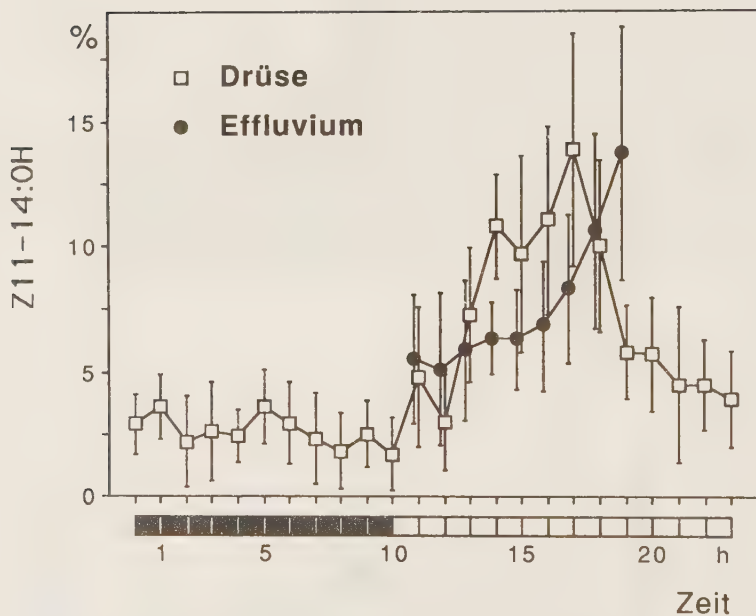


Abb. 7. Vergleich des mittleren prozentualen Anteils von Z11-14:OH pro Tier am Drüseninhalt (Quadrate) und am Effluvium (Kreise) von drei Tage alten *C. pronubana*-Weibchen im Verlauf der Photoperiode (14:10 L:D). Gleiche Versuchsserie wie in Abb. 5.

Tab. 2.a. Mittlere Mengen der Pheromonkomponenten pro Weibchen in Drüsenextrakten und Effluvia von *C. pronubana*

Alter	ng		14:Ac	Z9-14:Ac	E11-14:Ac	Z11-14:Ac	Z11-14:OH
d=1	Emission	(n=63) ¹	1.7 ±1.0	0.4 ±0.3	1.5 ±0.9	17.8 ±10.6	1.6±0.8
d=3	Emission	(n=78) ¹	1.2 ±0.6	0.4 ±0.2	1.4 ±0.8	24.8 ±14.5	2.0 ±0.9
	Drüsen L	(n=90) ²	1.5 ±1.1	0.6 ±0.4	1.4 ±1.3	34.0 ±29.1	2.9 ±1.3
	Drüsen NL	(n=150) ³	2.5 ±1.6	0.7 ±0.4	2.2 ±1.0	44.8 ±21.4	1.5 ±0.6
d=5	Emission	(n=84) ¹	1.0 ±0.6	0.4 ±0.2	1.2 ±0.7	23.0 ±13.2	2.1 ±0.9
	Drüsen L	(n=100) ²	1.1 ±0.6	0.8 ±0.7	1.0 ±0.7	24.4 ±23.2	2.5 ±1.5
	Drüsen NL	(n=140) ³	0.9 ±0.7	0.3 ±0.2	0.6 ±0.6	16.7 ±10.1	1.1 ±0.5

Tab. 2.b. Prozentualer Anteil der Pheromonkomponenten pro Weibchen in Drüsenextrakten und Effluvia von *C. pronubana*

Alter	%		14:Ac	Z9-14:Ac	E11-14:Ac	Z11-14:Ac	Z11-14:OH
d=1	Emission	(n=63) ¹	6.4 ±2.7	1.3 ±0.7	5.6 ±2.4	79.8 ±8.5	6.9 ±3.7
d=3	Emission	(n=78) ¹	4.3 ±1.1	1.0 ±0.6	4.7 ±0.6	82.1 ±3.8	7.8 ±3.3
	Drüsen L	(n=90) ²	4.1 ±1.5	1.7 ±1.1	3.4 ±1.2	82.2 ±3.6	8.6 ±3.4 a
	Drüsen NL	(n=150) ³	4.8 ±1.7	1.3 ±0.6	4.4 ±0.6	86.1 ±2.7	3.4 ±1.4 b
d=5	Emission	(n=84) ¹	4.5 ±2.2	1.3 ±0.8	4.8 ±1.4	80.3 ±8.3	9.0 ±7.4
	Drüsen L	(n=100) ²	5.4 ±4.8	2.6 ±0.9	3.5 ±1.2	79.0 ±9.8	10.7 ±6.5 a
	Drüsen NL	(n=140) ³	4.5 ±4.7	1.5 ±0.7	2.6 ±1.2	84.9 ±5.0	6.6 ±2.3 a

¹ Emission während einer Stunde; 10 Weibchen; zwei 15min Meßintervalle/ Stunde; (s. Abb. 4)

² Drüseninhalt während der Lockperiode; je 10 Weibchen/Stunde; (s. Abb. 5)

³ Drüseninhalt außerhalb der Lockperiode; je 10 Weibchen/Stunde; (s. Abb. 5)

Die Proportion des Drüseninhalts ist bei 3 Tage alten Weibchen inner- und außerhalb der Lockperiode signifikant verschieden (Chi²-Test; p=0.05).

3.4. Diskussion

Der Pheromongehalt in den Weibchendrüssen von *C. pronubana* steigt, unabhängig vom Alter des Weibchens, kurz vor Beginn der Lockperiode stark an. Die deutliche Abnahme des Drüseninhalts nach Beginn der Lockphase beeinflusst in vergleichsweise geringem Maße die Emissionsraten, die zwar ebenfalls zu Beginn maximal sind, aber auch während der ersten Stunden der Lockphase nur langsam abnehmen (Abb. 5).

Die biosynthetische Produktion von Pheromon in der Drüse hält also offensichtlich während des größten Teils der Lockperiode an. Ca. fünf Stunden nach Beginn der Photophase betragen die Emissionsraten immer noch mehr als 50% der anfänglichen Werte (ca. 20 ng/h), obgleich der Drüsengehalt bei drei Tage alten Weibchen innerhalb des gleichen Zeitraums von anfänglich ca. 100 ng/Drüse auf seinem tiefsten Wert (ca. 20 ng/Drüse) gesunken ist. Die Gesamtemission übertrifft bei weitem den Drüseninhalt zu Beginn der Lockphase (Abb. 5b, Tab. 2).

Ein bedeutender Anstieg des Pheromongehalts in Weibchendrüssen kurz vor Lockbeginn, gefolgt von einem schnellen Absinken des Drüsengehalts ist auch bei anderen Arten von Lepidopteren bekannt (Webster und Cardé, 1982, Konno, 1986, Delisle und McNeal, 1987a, Dunkeiblum et al. 1987). Allerdings existieren auch Arten, bei denen der Anteil rufender Weibchen und der Drüseninhalt weitgehend synchron zunehmen (Raina et al., 1986, Coffelt et al., 1978, 1979).

Die biosynthetische Aktivität in der Drüse von *C. pronubana* nimmt unmittelbar nach Beginn der Photophase sehr rasch zu. Bei *Heliothis zea*, einer nachtaktiven Art, wurde im Suboesophagus ein Neuropeptid isoliert, welches vor Beginn der Lockphase innerhalb weniger Minuten die Pheromonproduktion induziert. Die Abgabe dieses Peptids in die Haemolympe wird offensichtlich vom Beginn der Scotophase ausgelöst (Raina et al., 1987).

Eine neuro-hormonale Induktion der Pheromonproduktion in Abhängigkeit von der Photoperiode könnte die Periodizität der Pheromonemission bei künstlicher Drüsenexposition erklären, die es dem Weibchen nicht erlaubt, die natürliche Rufposition einzunehmen (Pope et al., 1982, Haynes et al., 1983; s. Abschnitt 2). Das Rufverhalten bei *Lymantria dispar* wird unabhängig von der neuronal induzierten Produktion des Pheromons vom terminalen Abdominalganglion gesteuert (Hollander und Yin, 1982, 1985).

Der Vergleich von Drüseninhalt und Emission bei *C. pronubana*-Weibchen verschiedenen Alters zeigt die starke biosynthetische Aktivität der Drüse unmittelbar vor und während der Lockphase noch deutlicher: Drüsen von älteren Weibchen beinhalten weniger Pheromon während der Scotophase, geben aber während der Lockphase mehr Pheromon ab (Tab. 2, Abb. 5). Eine altersbedingte Zunahme der Lockdauer, bzw. die Abhängigkeit des Drüseninhalts vom Alter ist auch bei anderen Lepidopteren gut belegt (Shorey et al., 1968, Swier et al., 1977, Castrovillo und Cardé, 1979, Turgeon und McNeil, 1982, Aliniazee, 1983, Schal und Cardé, 1986, Snir et al., 1986, Delisle und McNeal, 1987a, Dunkelblum et al., 1987, Gerber und Howlader, 1987, Kou und Chow, 1987, Swaby et al., 1987).

Ein wesentliches Ergebnis ist die sehr gute Übereinstimmung der relativen Zusammensetzung von Drüseninhalt und Effluvium. Wie bereits der Vergleich von Effluvia und Drüsenextrakten mehrerer Weibchen gezeigt hatte (Tab.1), werden die produzierten Komponenten von den lockenden Weibchen abgegeben, die proportionale Zusammensetzung des Pheromongemischs in Drüsen und Effluvia unterscheidet sich nicht (Tab. 2b).

Unabhängig von individuellen Unterschieden bezüglich der Produktion der $\Delta 11$ -Komponenten und des Z9-14:Ac (Abb. 4b) ist die durchschnittliche proportionale Zusammensetzung des Drüseninhalts während der Scotophase konstant (Abb. 7). Während der Lockperiode ist die qualitative Zusammensetzung des produzierten und abgegebenen Gemischs von der Gesamtmenge weitgehend unabhängig. Lediglich gegen Ende der Rufperiode manifestiert sich eine geringfügige, nur bei drei Tage alten Weibchen statistisch belegbare Veränderung der Zusammensetzung des Drüseninhalts (Tab. 2b), die wohl in erster Linie auf die Zunahme des Alkoholanteils zurückzuführen ist (s. a. Abb. 4a).

Grundsätzlich könnte der Anstieg des Alkohols auf einen systematischen Meßfehler zurückzuführen sein: Bei einer Abnahme des Drüseninhalts wäre es denkbar, daß die übrigen, nur noch in Spuren vorhandenen Nebenkomponten am FID-Detektor des Gaschromatographen weniger stark ansprechen und somit zu einer Überbewertung des Alkoholanteils führen. Dagegen spricht allerdings das Absinken des Alkoholanteils in den Drüsen unmittelbar nach Ende der Rufperiode (Abb. 6, 7).

Auch das Koeluieren einer erst gegen Ende der Rufperiode auftretenden Substanz mit der Alkoholkomponente ist nicht gänzlich auszuschließen, obwohl erstens einzelne Proben laufend am Massenspektrometer auf ihre Zusammensetzung überprüft wurden und zweitens ein Koeluieren zweier verschiedener Substanzen bei verschiedenen Temperaturprogrammierungen (Effluvia: isotherm, 150 °C; Drüsen: 140 bis 240 °C bei 2 °C/min) unwahrscheinlich ist.

Letztendlich ist der synchrone Anstieg des Alkoholanteils sowohl in den Effluvia (Abb. 4a) als auch in den Drüsen (Tab. 2b, Abb. 7) das deutlichste Argument für eine leichte Verschiebung der Pheromonproduktion und -abgabe gegen Ende der Lockphase.

Wie bereits in Abschnitt 2 dargestellt wurde, besteht Grund zur Annahme, daß Z11-14:OH enzymatisch aus Z11-14:Ac gebildet wird. Die hydrolytische Bildung des Alkohols findet vermutlich erst als letzter Schritt der Biosynthese statt (Morse und Meighen, 1986, Teal und Tumlinson, 1986, 1987, Wolf und Roelofs, 1987). Von fast allen, in Drüsenextrakten und Effluvia von *C. pronubana* identifizierten Acetaten wurde auch der zugehörige, analoge Alkohol nachgewiesen. Das mittlere Verhältnis der vier analogen Alkohol/Acetat-Paare in Tab. 1 beträgt 0.09 ± 0.1 . Die Aktivität der für die Bildung des Alkohols verantwortlichen, wahrscheinlich wenig spezifischen Enzyme könnte unter Umständen bei sehr rasch fallendem Drüseninhalt vergleichsweise langsamer abnehmen, und somit für diese proportionale Verschiebung verantwortlich sein.

Bei der Noctuidenart *Mamestra brassicae* wurde die enzymatische Acetylierung eines in der Drüse produzierten Alkohols auf der Drüsenoberfläche nachgewiesen (Bestmann et al., 1987). Die beteiligten Enzyme sind dabei sehr unspezifisch, wie die Umwandlung selbst sekundärer, von außen applizierter Alkohole zeigt (Bestmann et al., 1987). Bei *Heliothis virescens* werden Alkohole auf der Drüsenoberfläche zu Aldehyden transformiert (Teal und Tumlinson, 1986; s. a. Abschnitt 1.4.).

Die rasche Abnahme des Alkoholgehalts in den Drüsen von *C. pronubana* unmittelbar nach Ende der Emissionsphase (Abb. 7) könnte somit auf Bildung der Alkohol- aus den Acetatkomponenten auf der Drüsenoberfläche hinweisen.

4. Verhaltenswirksamkeit der Pheromonkomponenten

4.1. Einleitung

Anlaß für die Definition der Stoffklasse der Pheromone war die Identifizierung des Bombykols (s. S. 4), welches als Einzelsubstanz das sexuelle Verhalten des männlichen Seidenspinners *Bombyx mori* auslöst. Entsprechend gingen Karlson und Lüscher von dem Konzept einer einzigen verhaltensaktiven Substanz aus. Tatsächlich bestehen Sexualpheromone bei einem überwiegenden Teil der untersuchten Lepidopteren jedoch aus einem Gemisch von mehreren Pheromonkomponenten. Die mengenmäßig überwiegende Komponente wird i.a. als "Hauptkomponente", alle weiteren als "Neben-" oder "Sekundärkomponenten" bezeichnet. Um identifizierte Drüseninhaltsstoffe als Pheromonkomponenten bezeichnen zu können, muß ihre Verhaltensaktivität demonstriert werden.

So wurden zB. beim Apfelwickler *Cydia pomonella* dreizehn potentielle Pheromonkomponenten verwandter Struktur in der Weibchendrüse und neun in den Weibcheneffluvia chemisch identifiziert (Einhorn et al., 1984, 1985, Arn et al., 1985), bis jetzt konnte jedoch erst für zwei dieser Komponenten eine Verhaltenswirksamkeit bei männlichen Apfelwicklern nachgewiesen werden (Arn et al., 1985, Einhorn et al., 1984, 1986). Definitionsgemäß sind also in diesem Fall von den vom Weibchen produzierten und emittierten Substanzen nur zwei Bestandteil des Pheromons.

Die chemische Identifikation und Charakterisierung der von *C. pronubana* produzierten und abgegebenen Komponenten wurde in den Abschnitten 1 bis 3 beschrieben. Die nachfolgend ausgeführten Verhaltensversuche im Windkanal an männlichen Faltern mit den vom Weibchen emittierten Substanzen bilden den biologischen Teil der Identifikation des Sexualpheromons dieser Art.

Verhaltensanalysen bei verschiedenen Lepidopterenarten in Labor und Freiland hatten Hinweise darauf ergeben, daß einzelne Komponenten des Pheromongemisches bestimmte Teile der männlichen Verhaltenssequenz (Aktivation, Flug, Landung, Kopulation; Bartell, 1977) spezifisch beeinflussen (Baker und Cardé, 1979b, Baker et al., 1976, Linn und Gaston 1981a, b, Bradshaw 1983, Palaniswamy et al., 1983). Neuere Untersuchungen haben jedoch gezeigt, daß bei *Argyrotaenia velutinana*, *Grapholita molesta* und *Trichoplusia ni* das vollständige Phero-

monbouquet, d.h. ein definiertes Mischungsverhältnis aller Pheromonkomponenten jeden Verhaltensschritt optimal auslöst (Linn et al., 1984, Linn et al., 1986). Die richtig proportionierte Mischung würde dann die sexuelle Verhaltenssequenz als "Ensemble" auslösen. Trotzdem ist nach wie vor unklar, ob sich die Komponenten eines Pheromongemischs hinsichtlich ihrer verhaltensphysiologischen Funktion im Gemisch individuell unterscheiden.

Nach Messung der Effluvia individueller *C. pronubana*-Weibchen (Abschnitt 2) wurden die Substanzen Z9-14:Ac, E11-14:Ac, Z11-14:Ac und Z11-14:OH für die Verhaltensuntersuchungen im Windkanal ausgewählt. Die weiteren, in geringen Mengen in den Weibcheneffluvia identifizierten Komponenten (Tab. 1) wurden also nicht berücksichtigt.

4.2. Material und Methoden

Substanzen. Alle verwendeten synthetischen Pheromonkomponenten wurden im Laboratoire des Médiateurs Chimiques, Brouessy synthetisiert und HPLC-gereinigt. Die Reinheit der Hauptkomponente Z11-14:Ac war > 99.9%. Ausgehend von den Reinsubstanzen wurden in 3-monatigen Abständen Verdünnungsreihen in Hexan (Merck, zur Rückstandsanalyse) angelegt, die jeweils nur eine Verbindung enthielten. Für die Pheromongemische mit 2 oder 3 Komponenten wurden, bezogen auf eine konstante Dosis von 100 ng Z11-14:Ac, zusätzlich 1, 3, 10, 30 und 100% der weiteren Komponenten auf ein Filterpapier pipettiert. Für die Mischungen mit 4 Komponenten wurden ebenfalls 1, 3, 10, 30 und 100% der Nebenkomponten einer Dosis von 10 ng Z11-14:Ac zugefügt. Die Filterpapiere wurden jeweils am Vortag der Versuche bereitet und bis 2 h vor Versuchsbeginn bei -18 °C in Glasfläschchen aufbewahrt.

Windkanal. Die Verhaltensversuche wurden in einem Windkanal aus Plexiglas (200 cm lang, 90 cm breit, 70 cm hoch) ausgeführt, der für die Versuche neu konstruiert wurde. Der Windkanal befand sich in einem vom Institutsgebäude getrennten Container (6 m lang, 2.60 m hoch, 2.50 m breit). Ein Ventilator am unteren Kanalende sog Luft aus dem Freien (durch eine Öffnung an der Stirnseite des Containers) durch den Windkanal an und beförderte die Abluft auf der dem Lufteinlass gegenüberliegenden Seite wieder ins Freie. Die Windgeschwindigkeit betrug in allen Versuchen 30 cm/s (ALNOR® Hitzdrahtanemometer). Die aus dem Freien angesaugte Luft wurde zuerst mit elektrisch geheizten Drähten auf 20- 22°C erwärmt und anschließend mit mehreren Schichten von Aktivkohlefiltern gereinigt. Das Ansaugen der Luft durch den Kanal verhindert auch bei Öffnen der Kanaltüren ein Entweichen von Testsubstanzen in den Raum, in dem die Männchen vor Versuchsbeginn akklimatisiert wurden. Die Ausbreitung der Duftwolke wurde mit Räucherstäbchen simuliert. Die Rauchfahne breitete sich über zwei Drittel der Kanallänge hinweg völlig geradlinig aus, erst im Käfigbereich wurden seitliche Aufweitungen und Verwirbelungen sichtbar. Der Kanal wurde von oben mit drei Neonelementen (80 x 100 cm) beleuchtet, die Lichtintensität lag bei allen Versuchen bei ca. 1000 Lux. Das Filterpapier mit synthetischem Lockstoff war auf einem Drahtgestänge, 20 cm vom oberen Kanalende entfernt, in ca. 35 cm Höhe befestigt.

Insekten. Alle Insekten wurden im Labor auf einem semiartifiziellem Nährmedium gezüchtet (14:10 L:D Photoperiode, 22 °C, 80% rel. Feuchte, Abschnitt 1). Die Geschlechter wurden in der Puppenphase getrennt, Männchen und Weibchen in getrennten Räumen gehalten.

Die geschlüpften adulten Männchen wurden täglich zu zehnt in Plastikdosen (500 ml) gegeben und dort bis zum Versuch unter einer 14:10 Hell:Dunkel Photoperiode aufbewahrt. Alle Versuche wurden mit 2 und 3 Tage alten Männchen 2- 4 h nach Beginn der Lichtperiode durchgeführt.

Windkanalversuche. Ca. 1 h vor Beginn der Versuchsreihen wurden je 5 Männchen in mit Gaze bespannte Käfige (10 cm hoch, 6 cm Ø) gesetzt. Zu Versuchsbeginn wurden sie in diesem Käfig (am unteren Kanalende, in 30 cm Höhe) 1 min lang der bereits im Kanal befindlichen Pheromonquelle ausgesetzt. Die Versuchsdauer nach Öffnen des Käfigdeckels betrug 5 min. In allen Versuchen wurden folgende Verhaltensweisen protokolliert: Aktivierung im Käfig (Lauf, Flug, Flügelschwirren); Verlassen des Käfigs; Orientierungsflug (abgebrochene und vollständige Flüge mit Landung auf dem Köder); Dauer des Orientierungsflugs; Zeitpunkt der Landung auf der Quelle; Dauer des Aufenthalts auf dem Filterpapier; Verhaltensweise auf der Quelle (Ruhe, Lauf, Flügelschwirren, Kopulationsversuche mit der Quelle oder anderen Männchen).

Die Mischungen der einzelnen Komponenten wurden nach einem festen Versuchsplan getestet. Um die Beeinflussung der Versuche durch eine mögliche Kontamination des Kanals gering zu halten, wurde jeweils eine Komponente des Gemisches während einer Versuchsreihe an einem Tag laufend gesteigert. Dieses Verfahren erleichterte auch unmittelbare visuelle Vergleiche des Einflusses einer bestimmten Komponente. Jede Mischung wurde an drei verschiedenen Tagen, mit 30, 20 und 20 Männchen getestet (n=70).

Fallenversuche. In Nordfrankreich treten pro Jahr zwei Generationen von *C. pronubana* auf. In vier Obstgärten wurde während der Flugzeit der zweiten Generation von Ende August bis Ende Oktober je eine Fallenserie mit 30 Ködermischungen ausgebracht. Die Fallen (Tetrafallen; Arn et al., 1979) wurden bei 10m Fallenabstand in zufälliger Reihenfolge in Augenhöhe an grüne Zweige von Obstbäumen gehängt. Die Köder wurden in 2-wöchentlichen Abständen gewechselt, die Fallen wöchentlich einmal kontrolliert. Die Lockstoffquellen (rote Kautschukzapfen) enthielten 100 µg der Hauptkomponente Z11-14:Ac, die Nebenkomponten wurden entsprechend den im Weibcheneffluvium (s. Abschnitt 2) gemessenen Proportionen (1, 3, 10 µg E11-14:Ac; 1, 3, 10 µg Z9-14:Ac; 3, 10 und 30µg Z11-14:OH) beigefügt. Eine Serie von 30 Fallen umfaßte eine Falle mit 100µg Z11-14:Ac, sowie 10 binäre, 12 ternäre und 7 quaternäre Substanzmischungen.

Statistik. Zur Unterscheidung der Köderwirkung aller untersuchter Mischungen im Windkanal erwies sich die Anzahl der am Köder angeflogenen Männchen als am besten geeignet. Für die binären, ternären und quaternären Mischungen wurde eine Varianzanalyse für die Anzahl der bei jeder Versuchsreihe angeflogenen Männchen durchgeführt (Zweiwegklassifikation,

Tukey-Test; $p = 0.05$). Besonders bei den quaternären Ködern (100 Mischungen) wird die Darstellung der statistisch gesicherten Unterschiede zwischen den einzelnen Meßpunkten zu unübersichtlich. Um eine geeignete, rasch erfäßbare graphische Darstellung der Verhaltensantwort zu ermöglichen, wurden die Prozentwerte der bei jeder Mischung insgesamt angeflogenen und gelandeten Männchen ungeachtet der statistisch gesicherten Unterschiede in 10%-Klassen eingeteilt. Diese Einteilung ermöglicht eine schnelle visuelle Erfassung der Attraktivität der Köder, gibt jedoch keine Auskunft über statistische Unterschiede zwischen einzelnen Meßpunkten. Für den Vergleich der Dauer der orientierten Anflüge wurde eine nicht-parametrische Varianzanalyse (Kruskal-Wallis-Test; $p = 0.05$), für die Fallenversuche eine Varianzanalyse mit nachfolgendem Tukey-Test ($p = 0.05$) berechnet.

4.3. Ergebnisse

Einzelkomponenten. Von den vier Testverbindungen löste als Einzelsubstanz nur das Z11-14:Ac erfolgreiche Orientierungsflüge mit Landung auf der Quelle aus, wenn auch nur bei höherer Dosierung. Bei 10 µg flogen nur 3 von insgesamt 70 Tieren an, die angeflogenen Tiere saßen ruhig auf der Pheromonquelle. Da von allen pheromonähnlichen Substanzen in Weibchendrüse und Weibcheneffluvium außerdem ca. 80% der Mengenanteile auf Z11-14:Ac entfallen, sei diese Komponente weiterhin als "Hauptkomponente", alle weiteren (E11-14:Ac, Z9-14:Ac, Z11-14:OH) als "Neben-" oder "Sekundärkomponenten" bezeichnet.

Binäre Mischungen. Unter den geprüften binären Mischungen von 100 ng der Hauptkomponente Z11-14:Ac mit variablen Dosen der Nebenkomponten löste nur die Mischung mit dem analogen Alkohol Z11-14:OH die vollständige sexuelle Verhaltenssequenz einschließlich Flügelschwirren und Haarpinselexposition auf der Pheromonquelle aus (vgl. Abb. 8, 9). Aufwindanflüge waren erst bei mindestens 10% Alkoholbeimischung zu beobachten, die Anzahl aktivierter Tiere und der erfolgreichen Anflüge an den Köder nahmen bei Erhöhung der Alkoholdosis zu (Abb. 8 a). Das Flügelschwirren im Käfig und das Kopulationsverhalten auf der Quelle wurde dabei zunehmend intensiver. Binäre Mischungen mit E11-14:Ac oder Z9-14:Ac waren nicht attraktiv.

Ternäre Mischungen. Die "Attraktivität" (Anzahl gelandeter Falter nach erfolgreichem Aufwindanflug) ternärer Mischköder in Abhängigkeit vom Anteil des Alkohols Z11-14:OH zeigt Abb. 8 b,c. Die Dosis der Hauptkomponente Z11-14:Ac beträgt dabei konstant 100 ng, die der Nebenkomponten Z9-14:Ac, bzw. E11-14:Ac konstant 3 ng. Abb. 9 gibt eine zusammenfassende Darstellung der Anflüge an alle untersuchten ternären Kombinationen.

Das Antwortmuster auf die beiden attraktiven ternären Mischungen (Abb. 9) weist einen deutlichen Unterschied auf. Für die Beimischung von E11-14:Ac zu Z11-14:Ac und Z11-14:OH ergibt sich ein klares Optimum bei 3 ng, während Mischungen die zwischen 1 und 30 ng Z9-14:Ac enthalten bei konstanter Alkoholdosis einander ähnliche Verhaltensantworten auslösen. Wie bei den binären Gemischen (Abb. 8 a) liegt das Reizoptimum für den Alkohol im oberen Dosisbereich. Allerdings ist bei Beimischung von E11-14:Ac das Optimum bereits bei 10 ng, bei Zugabe von Z9-14:Ac anstelle von E11-14:Ac das Optimum erst bei 100 ng Z11-14:OH erreicht. Von allen möglichen ternären Mischungen waren nur solche attraktiv, die sowohl Z11-14:Ac, als auch Z11-14:OH enthielten (Abb. 8, 9).

Bei einer Beimengung von 100 ng Z11-14:OH und 1- 30 ng Z9-14:Ac zu 100 ng Z11-14:Ac war die Zahl der Anflüge gegenüber der binären Mischung mit 100 ng Z11-14:OH allein signifikant erhöht (Abb. 8 a, b; Abb. 9). Bei 10 ng und 30 ng OH-Zusatz löste die Mischung mit 3 ng E11-14:Ac signifikant mehr Anflüge aus als die Mischung mit 3 ng Z9-14:Ac und 10 oder 30 ng Alkohol; bei 100 ng Alkohol- Beimischung war die Attraktivität der ternären Köder bei 3 ng E11-14:Ac oder Z9-14:Ac nicht mehr verschieden (Abb. 8 b, c; Abb. 9).

Die übrigen Teile der Verhaltenssequenz (Aktivation, Flügelschwirren bei Aktivierung, abgebrochene Anflüge, Kopulationsversuche auf der Quelle, Dauer des Aufenthalts auf der Quelle) wurden ebenfalls durch die Zusammensetzung der Köder beeinflusst, ergaben jedoch wesentlich weniger signifikante Unterschiede zwischen den einzelnen Formulierungen als das Kriterium "Landung auf dem Köder nach erfolgreichem Orientierungsflug" (Abb. 8).

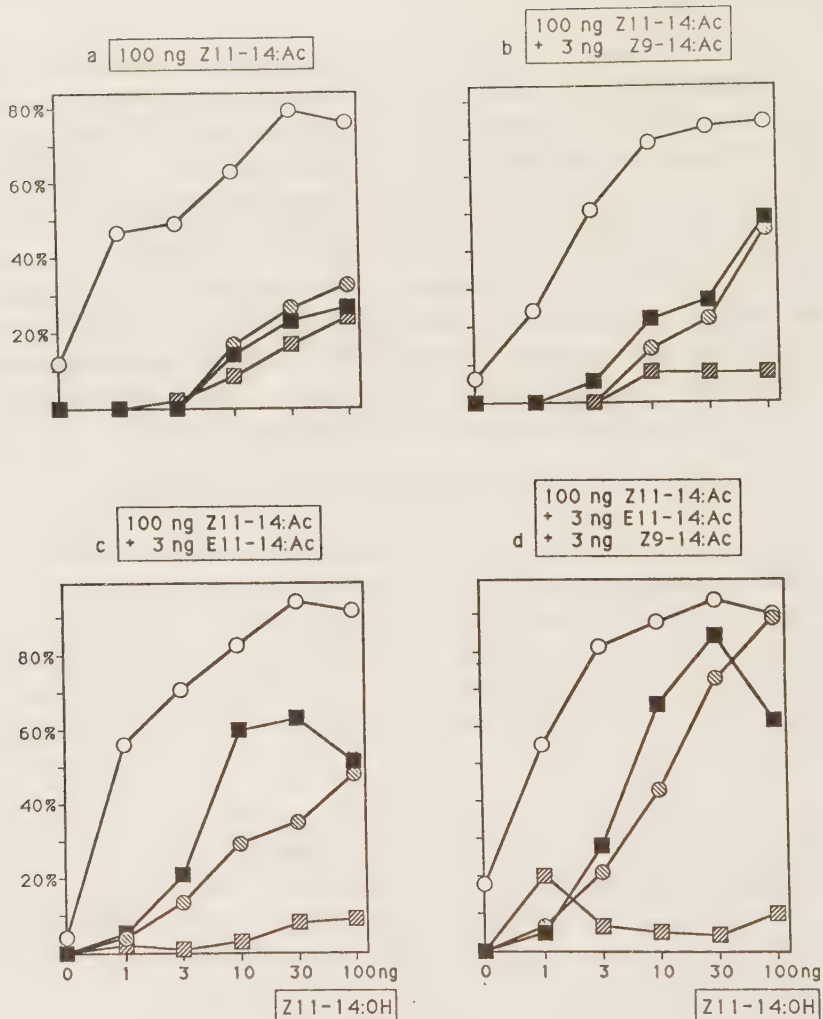


Abb. 8. In einzelne Teile der Verhaltenssequenz aufgegliederte, durch Mischköder verschiedener Zusammensetzung induzierte Verhaltensantwort von *C. pronubana*- Männchen (n=70). a: binäre; b, c: ternäre; d: quaternäre Mischungen. Die Dosis der Hauptkomponente Z11-14:Ac beträgt konstant 100 ng, die der Nebenkompontenten E11-14:Ac bzw. Z9-14:Ac 3 ng. Leerer Kreis: Aktivierung (Abflug aus dem Käfig). Schraffierter Kreis: Flügelschwirren im Käfig während 1-minütiger Expositionsperiode mit synthetischem Pheromon. Schraffiertes Quadrat: abgebrochene Anflüge. Volles Quadrat: Anflüge an den Köder. Die wichtigsten statistisch gesicherten Unterschiede sind dem Text zu entnehmen.

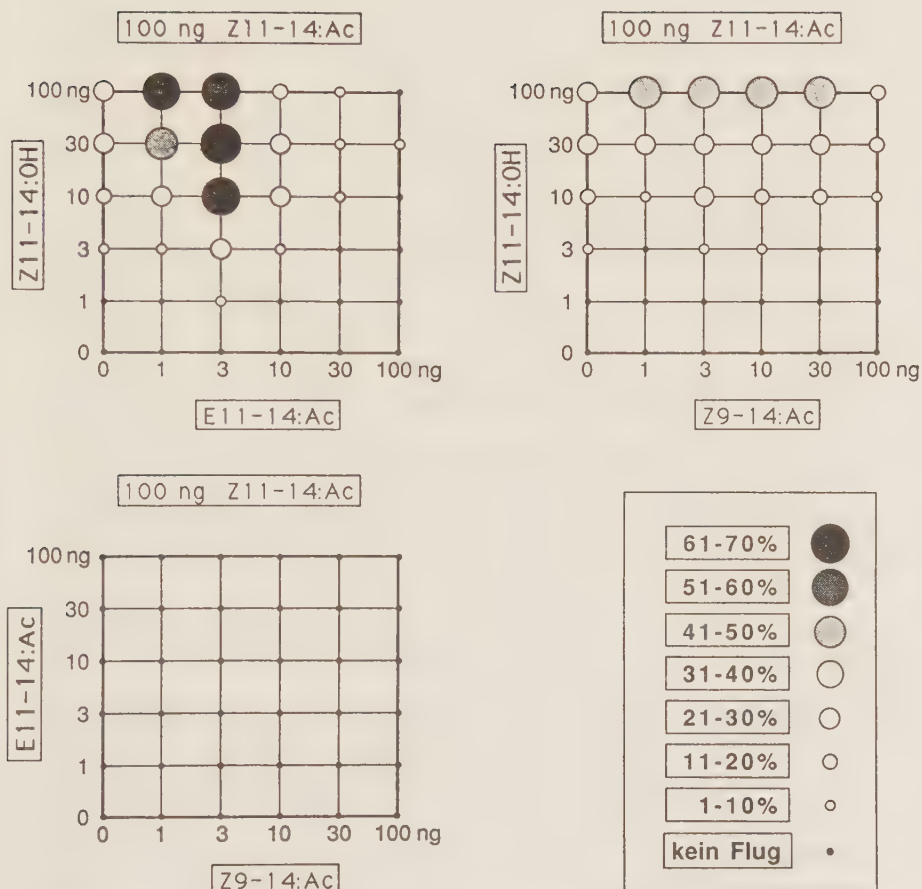


Abb. 9. Anflüge von *C. pronubana*- Männchen (n=70) an 75 ternäre und 15 binäre Ködermischungen bei einer konstanten Dosis von 100 ng Z11-14:Ac und unterschiedlicher Beimischung der minoritären Komponenten zur Hauptkomponente. Die Anzahl der Anflüge wurden in 10%- Klassen eingeteilt, die wichtigsten signifikanten Unterschiede sind dem Text zu entnehmen.

Quaternäre Mischungen. Die quaternären Mischungen aus 100 ng Z11-14:Ac, 30 oder 100 ng Z11-14:OH und je 3 ng E11-14:Ac und Z9-14:Ac war den betreffenden ternären Mischungen (30, 100 ng Z11-14:OH, 3 ng E11-14:Ac oder 3 ng Z9-14:Ac) hinsichtlich der Auslösung des Flügelschwirrens im Käfig deutlich überlegen (Abb. 8d). Auffällig war weiterhin, daß Mischungen, die beide Acetat-Nebenkomponenten (E11-14:Ac, Z9-14:Ac) enthielten, bereits bei einem Alkoholzusatz von nur 1 ng einen signifikanten Anteil von abgebrochenen Anflügen auslösten. Die Zahl der Anflüge an das attraktivste quaternäre Gemisch (30 ng OH; Abb. 8 d) war gegenüber dem besten ternären Gemisch (Abb. 8 c) erhöht, jedoch statistisch nicht mehr verschieden. Da bei dieser Dosierung (100 ng Z11-14:Ac) bereits 80% der Männchen an den Köder anfliegen und landeten, wurden die folgenden Versuche mit 100 Kombinationen der 4 Komponenten mit einer Ausgangsdosis von 10 ng Z11-14:Ac durchgeführt. Bei dieser Dosierung der Hauptkomponente lockte die beste ternäre Kombination (10 ng Z11-14:Ac, 0.3 ng E11-14:Ac, 3 ng Z11-14:OH) nur noch 28% der Männchen an, die binäre Mischung 10 ng Z11-14:Ac und 10 ng Z11-14:OH nur noch 4% (n=50).

Die Anzahl erfolgreicher Anflüge an diese 100 verschiedenen Kombinationen der 4 Pheromonkomponenten bei einer konstanten Dosis von 10 ng Z11-14:Ac ist in Abb. 10 dargestellt. Für den Alkohol ergibt sich ein klares Optimum für die Landungen auf der Quelle bei 30%-iger Zugabe zur Hauptkomponente Z11-14:Ac, deren E-Isomer bei 3% optimal dosiert ist. Die Beeinflussung des Anflugs durch die Dosierung des Z9-Acetats ist demgegenüber wesentlich unspezifischer. Die maximale Zahl der Anflüge (68%) wurde mit einer Beimischung von 3% E11-14:Ac, 3% Z9-14:Ac und 30% Z11-14:OH zur Hauptkomponente registriert.

Feldversuche. Die Beobachtungen im Windkanal wurden durch die Fallenversuche im Freiland bestätigt. Von den binären und ternären Mischungen waren nur solche fängig, die sowohl die Hauptkomponente, als auch den analogen Alkohol enthielten. Die beste quaternäre Mischung (100µg Z11-14:Ac, 3µg E11-14:Ac, 1µg Z9-14:Ac, 10µg Z11-14:OH), die beste ternäre Mischung (100µg Z11-14:Ac, 3µg E11-14:Ac, 10µg Z11-14:OH) und die beste binäre Mischung (100µg Z11-14:Ac, 10µg Z11-14:OH) waren signifikant voneinander verschieden (insgesamt 51; 22; 4 gefangene Männchen). Für die gewählten Beimischungen von 1, 3 und 10% E11-14:Ac und Z9-14:Ac ergaben sich keine signifikanten Unterschiede, die 3%-ige Alkoholdosis war signifikant weniger attraktiv als die 10- und 30%-ige Beimischung.

Verhaltensbeobachtungen im Windkanal. Die visuelle Beobachtung der Verhaltenssequenz, insbesondere des Flugverhaltens und die Messung der Flugdauer, führt zu einer weiteren Differenzierung der mit rein quantitativen Parametern gewonnenen Ergebnisse.

Allgemein induzierten bei *C. pronubana* unvollständige Mischungen oder Mischungen, bei denen die minoritären Acetate stark überdosiert sind ($E11-14:Ac \geq 30\%$; $Z9-14:Ac = 100\%$), Flugspuren, für die weite Auslenkungen senkrecht zur Windrichtung und schnelle Richtungsänderungen charakteristisch sind. In diesen Fällen benötigen die Tiere oft das gesamte Kanalvolumen ($200 \times 90 \times 70$ cm) für den Anflug, die Männchen fliegen in raschem Wechsel mit und gegen die Windrichtung. Die mit solchen nicht-optimalen Mischungen ("off-blends") beobachteten Trajektorien erscheinen wenig ausgeglichen und gezackt. Einzig hohe Alkoholdosen (zusammen mit gemäßigten Acetatdosen) bewirken eine starke Reduktion der Auslenkungen senkrecht zur Windrichtung, die Fortbewegung gegen die Windrichtung ("ground-speed") wird bei 100% Alkohol minimal, die Tiere "stehen" oft sekundenlang an derselben Stelle. Diese charakteristischen Modifikationen des Flugverlaufs waren auch bei binären und ternären Quellen deutlich sichtbar.

Die Dauer der direkten Anflüge zwischen Käfig und Köder war bei ternären und binären Mischungen mit einem Alkoholanteil von 100% signifikant höher als bei Mischungen mit 10% Alkohol. Bei den quaternären Mischungen schwächt sich dieser Effekt etwas ab (Tab. 3). Trotz deutlicher Modifikation der Trajektorien bei hohen Beimischungen der minoritären Acetate ergaben sich keine signifikanten Unterschiede für die Flugdauer mit schwachen und starken $Z9-14:Ac$ oder $E11-14:Ac$ -Dosen.

Je näher die Zusammensetzung des Gemisches am Attraktionsoptimum lag, desto geradliniger und ausgeglichener waren die Anflüge, die Männchen flogen oft fast gerade, mit geringen seitlichen Auslenkungen vom Käfig zur Quelle. Bei Experimenten mit mehreren Quellen verschiedener Position bewegten sich die Männchen relativ geradlinig auf eine Quelle zu, die Flugspuren lagen immer in einem Bereich, in dem nach Vorversuchen mit Rauchquellen die höchste Duftkonzentration zu erwarten wäre. Das beobachtete Flugbild kann selbst in Reaktion auf "off-blends" nicht als "Zickzackflug" beschrieben werden. Die Flugspuren sind im Raum entwickelt, wobei die Auslenkungen senkrecht zur Windachse in alle Richtungen gleich groß sind. Bei optimalen Mischungen könnte das Flugbild eher als "Spiralflug" bezeichnet werden.

Während bei Überdosierung der Sekundärkomponenten einerseits die Attraktivität der Köder hinsichtlich der Anzahl angeflogener Männchen stets abnahm (Abb. 10), wurden andererseits Flügelschwirren und die Exposition des Genitalapparats bei den auf der Quelle angeflogenen Tiere verstärkt. Bei mindestens 30%-iger Alkoholbeimischung und hohen $E11-14:Ac$ - oder $Z9-14:Ac$ -Dosen konnten bereits im Käfig oder an der windabwärts gelegenen Kanalwand Männchen mit exponierten Haarpinseln beobachtet werden. Die Flügelschwirreaktion im Käfig wurde bei allen Mischungen mit steigender Alkoholdosis laufend verbessert (Abb. 8). Mit ternä-

ren und quaternären Mischungen, die nur schwache Dosen der NebenkompONENTEN enthielten, saßen die Männchen nach anfänglichem Flügelschwirren oft lange Zeit ruhig auf der Quelle.

Tab.3 Dauer erfolgreicher Anflüge (in Sekunden) von *C. pronubana*-Männchen an Mischköder mit 10, 30, und 100% Z11-14:OH, sowie unterschiedlichen Anteilen an Z9-14:Ac und E11-14:Ac (x: variiert von 1 bis 100%) bezüglich der Hauptkomponente Z11-14:Ac.¹

	100 ng Z11-14:Ac		100 ng Z11-14:Ac +x% Z9-14:Ac		100 ng Z11-14:Ac +x % E11-14:Ac		10 ng Z11-14:Ac +x % E11-14:Ac +x % Z9-14:Ac	
Z11-14:OH	[s] ±SA	n		n		n		n
10 %	21 ± 12 a ²	14	20 ± 9 a	19	23 ± 11 a	32	19 ± 11 a	259
30%	26 ± 11 ab	23	24 ± 13 ab	21	21 ± 15 a	31	19 ± 10 a	416
100%	37 ± 16 b	22	33 ± 18 b	38	39 ± 14 b	29	25 ± 16 a	294

1 Nur direkte Anflüge vom Käfig zur Quelle wurden berücksichtigt
2 Anflugzeiten mit verschiedenen Buchstaben innerhalb einer Spalte sind signifikant verschieden (p=0.05; Kruskal-Wallis Test)

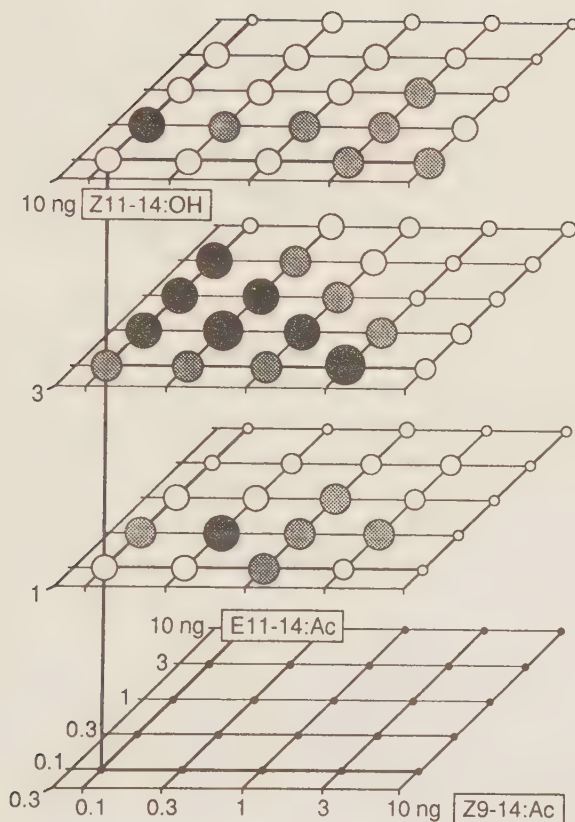


Abb. 10. Anflüge von *C. pronubana*- Männchen an 100 quaternäre Mischungen der vier Pheromonkomponenten Z11-14:Ac, E11-14:Ac, Z9-14:Ac, Z11-14:OH bei einer konstanten Dosis von 10 ng Z11-14:Ac. Die Anzahl der Anflüge wurden in 10%- Klassen eingeteilt (Abb. 9); n=70 pro Meßpunkt.

4.4. Diskussion

Das Sexualpheromon des Nelkenwicklers *C. pronubana* kann nach den Ergebnissen dieser Untersuchungen als Mischung von Z11-14:Ac, E11-14:Ac, Z9-14:Ac und Z11-14:OH beschrieben werden. Ein Gemisch aus drei oder vier dieser Pheromonkomponenten induziert sowohl die Aktivierung ruhender männlicher Falter wie Aufwindanflüge, Landung und Kopulationsverhalten. Bei einer Dosis von 10 ng der Hauptkomponente Z11-14:Ac wird im Windkanal die maximale Attraktion der Männchen mit einem Mischungsverhältnis von 100: 3: 3: 30 dieser Substanzen erreicht (Abb. 9).

Die Verhaltenswirksamkeit von Z11-14:Ac, E11-14:Ac und Z11-14:OH für männliche Falter von *C. pronubana* in Olfaktometer- und Fallenversuchen wurde bereits von Descoins et al. (1985) kurz beschrieben. Demgegenüber weisen elektrophysiologische Ableitungen an Antennen von *C. pronubana*- Männchen auf die Existenz von vier, für die oben genannten Pheromonkomponenten spezifische Typen von Rezeptorzellen hin (Priesner, 1979). Von den weiteren, im Weibcheneffluvium nachgewiesenen Verbindungen wurden bisher nur 14:Ac und Z9,E11-14:Ac systematisch in Beimengung zu ternären und quaternären Mischungen untersucht (Witzgall und Frérot, unveröff.). Die Attraktivität der Köder wurde durch Beimischung dieser Komponenten nicht signifikant verbessert.

Zur Unterscheidung der Verhaltensaktivität von Ködergemischen unterschiedlicher Zusammensetzung war das Kriterium "erfolgreiche Anflüge am Köder" am besten geeignet. Ähnlich wie bei Windkanalversuchen an Männchen von *Pectinophora gossypiella* (Linn und Roelofs, 1985) war der Beginn des aufwindorientierten Anflugs der für die Unterscheidung der Köderwirksamkeit spezifischste Teil der Verhaltenssequenz; fast alle abgeflogenen Männchen landeten am Köder. Dagegen war zB. bei *Grapholita molesta* nicht nur der Beginn des Anflugs, sondern auch die erfolgreiche Landung am Köder stark von der Zusammensetzung des Köders abhängig (Linn und Roelofs, 1983). Bei *C. pronubana* bestimmte die Zusammensetzung des Ködergemischs zwar stark den Prozentsatz anfliegender Tiere, nicht jedoch deren Landeverhalten. Dies mag auch auf einen optischen Stimulus durch das Filterpapier zurückzuführen sein.

Einzelne Komponenten waren bei Dosen, die der gemittelten Weibchenemission von 0.5 ng Z11-14:Ac/min (Abschnitt 2) entsprechen, nicht attraktiv. Bei einer Dosis von 10 ng Z11-14:Ac auf dem Filterpapier war die Attraktivität einer Mischung aller 4 Komponenten der Attraktivität von Ködermischungen mit 2 oder 3 Komponenten überlegen. Dieses Ergebnis würde die

von Roelofs (1978) postulierte Schwellenhypothese ("threshold hypothesis") bestätigen, derzufolge die Verhaltensschwelle männlicher Falter für ein vollständiges Gemisch aller Pheromonkomponenten wesentlich niedriger ist als für ein unvollständiges Gemisch. Verhaltensanalysen an *Grapholita molesta*, *Argyrotaenia velutinana* und *Trichoplusia ni* (Linn et al. (1986), *Pectinophora gossypiella* (Linn und Roelofs, 1985) oder *Spodoptera litura* (Kawasaki, 1986) im Windkanal, sowie Freilandbeobachtungen von *Pennisetia hylaeiformis* (Priesner et al., 1986) stützen ebenfalls diese Hypothese.

Z11-14:OH und E11-14:Ac entfalten bei 30% bzw. 3% ihre optimale "synergistische" Wirkung. Während E11-14:Ac bei 30- oder 100%iger Beimengung zur Hauptkomponente bereits inhibitorisch wirkt, ist das Z9-Isomer über einen weiten Dosisbereich hinweg (1- 30%) als Synergist aufzufassen (Abb. 9, 10). Dieser Befund steht in deutlichem Einvernehmen mit der Messung der Weibcheneffluvia (Abschnitt 2). Das Verhältnis, in dem die Δ 11-Komponenten und Z9-14:Ac produziert und emittiert werden, variiert innerhalb der untersuchten Population stark (Abb. 4b). Dagegen ist das Emissionsverhältnis der Δ 11-Komponenten untereinander weitgehend konstant (Abb. 4a). Dies ist insofern bemerkenswert, als *C. pronubana* zu einer Verwandtschaftsgruppe der Tortriciden gehört (Tribus: Archipini), in der ein spezifisches Verhältnis von Δ 11-14:Pheromonkomponenten für die reproduktive Isolation von größter Bedeutung ist (Roelofs und Brown, 1982, Priesner, 1985). In Abb. 11 sind die Proportionen der drei Nebenkompenten, die im Windkanal eine Attraktion von mehr 50% der Männchen bewirken (s. Abb. 10) den Proportionen der Gesamtemission derselben Komponenten von zehn Weibchen (s. Abb. 4) gegenübergestellt.

Der Alkoholanteil in Abb. 11 b ist höher als in Abb. 11 a, wahrscheinlich, weil zum einen die Alkoholemission der Weibchen bei Glasadsorption der Effluvia um ca. 10% unterschätzt wird (Abschn. 2; Abb. 2), zum anderen aber die Abdampftrate des Alkohols von Filterpapier im Vergleich zu Acetaten derselben Kettenlänge etwas geringer ist (Vorversuche). Dies würde auch erklären, daß zwar bei 30% Alkoholanteil die Verhaltenssequenz optimal induziert wird, der durchschnittliche Alkoholanteil in den Weibcheneffluvia jedoch nur ca. 9% beträgt (Abschnitt 2).

Ähnliches wurde bei *Lobesia botrana* beobachtet. Die Pheromonkomponenten E7,Z9-12:Ac, E7,Z9-12:OH und Z9-12:Ac werden im Verhältnis 100:25:8 in der Weibchendrüse produziert, die Zusammensetzung der wirksamsten synthetische Charge auf Teller-gummikappen und Glaskapillaren ist 100:30:5. Dasselbe Mischungsverhältnis auf Filterpapier führt zu schwächeren Verhaltensantworten als die 100:100:5-Mischung (Rauscher et al., in Vorber.).

Dennoch zeigt der Vergleich beider Abbildungen, daß bei *C. pronubana* sowohl Pheromonantwort als auch Pheromonabgabe in einem sehr begrenzten Bereich liegen, wobei in beiden Fällen eine deutliche Variation der Z9/E11– Proportionen vorliegt.

Offen bleibt, ob ein individuelles *C. pronubana*-Männchen auf Gemische mit unterschiedlichem Z9-14:Ac-Gehalt gleich reagiert (breites Reizantwortspektrum) und somit der Variation der Pheromonemission der Weibchen angepaßt wäre, oder ob die ganze Männchenpopulation hinsichtlich der Z9-14:Ac-Perzeption bzw. -Reaktion heterogen ist. Dies wäre mit visuellen Beobachtungen im Windkanal nur außerordentlich schwer zu klären, da mehrfache Tests mit einem Männchen kaum durchführbar sind (s. Schlußdiskussion). Eine individuelle Vielfalt der Männchenreaktion, sollte sie tatsächlich vorliegen, könnte in einer Wildpopulation zu einer besseren Verteilung der Männchen auf die lockenden Weibchen führen (s. a. Kaißling et al., 1978).

Obgleich bei *C. pronubana* die einzelnen Pheromonkomponenten erst im Gemisch ihre synergistische Wirkung entfalten, zeichnet sich zwischen ihnen doch eine klare Hierarchie ab. Das Weibcheneffluvium besteht zu ca. 80% aus Z11-14:Ac, diese Komponente ist die einzige, die für sich allein genommen bei Überdosierung Anflüge induzieren kann. Bei Dosen, die der Weibchenemission von 0.5 ng/min entsprechen (Abschnitt 2), löst das Z11-14:Ac dagegen nur zusammen mit dem analogen Alkohol Z11-14:OH die sexuelle Verhaltenssequenz aus (Abb. 8a). Selbst ein ternäres Gemisch von 100 ng Z11-14:Ac und verschiedenen Beimengungen von E11-14:Ac und Z9-14:Ac ist ohne den Alkohol nicht attraktiv (Abb. 2c). Diese "Hierarchie" der 4 Pheromonkomponenten rechtfertigt eine Einteilung in Haupt- und Nebekomponenten, wobei der Alkohol als "obligatorische Nebekomponente" begrifflich von den beiden Acetaten zu differenzieren ist.

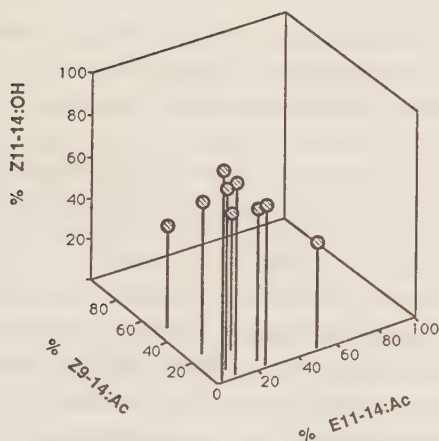
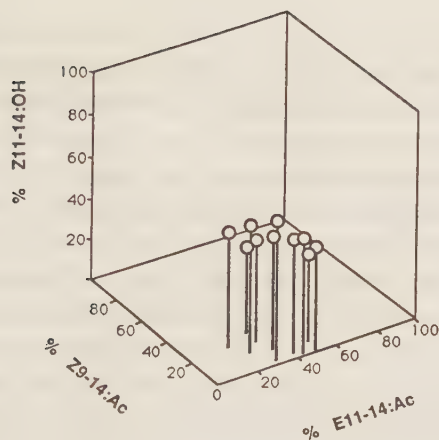


Abb. 11. Vergleich des proportionalen Anteils der minoritären Pheromonkomponenten (E11-14:Ac, Z9-14:Ac und Z11-14:OH) ohne Berücksichtigung der Hauptkomponente Z11-14:Ac a: in der Gesamtemission von zehn *C. pronubana*- Weibchen während drei Rufperioden (Abb. 4); b: in den neun für *C. pronubana*- Männchen im Windkanal attraktivsten Ködermischungen (>50% Anflüge) (Abb. 9).

Die meisten bekannten Pheromone von Nachtfaltern bestehen aus derartigen Haupt- und Nebenkomponten, wobei die Hauptkomponente allein in vielen Fällen bereits attraktiv ist. Bei manchen Arten wurde darüber hinaus für einzelne Komponenten eine spezifische Verhaltensfunktion dahingehend beschrieben, daß die Hauptkomponente meist als Flug- oder Orientierungskomponente, Nebenkomponten aber als Lande- oder Paarungsauslöser eingestuft werden (Bradshaw et al., 1983, Toth et al., 1984, Ono 1985). Eine deutliche Veränderung des Verlaufs des Orientierungsflug durch Zugabe von Nebenkomponten wurde bei *Euxoa ochrogaster* und *Plodia interpunctella* beobachtet (Mankin et al., 1983, Palaniswamy et al., 1983). Tatsächlich können diese, vermeintlich spezifischen Verhaltensfunktionen in manchen Fällen aber auch mit der Erniedrigung des Schwellenwerts der Verhaltensauslösung erklärt werden: Schwach ausgeprägte Verhaltensweisen in Reaktion auf ein unvollständiges Gemisch werden durch Zugabe von Nebenkomponten lediglich verstärkt, nie aber von diesen allein induziert.

Auch Befunde einer ausführlichen Verhaltensanalyse an *Trichoplusia ni* scheinen individuelle, spezifische Verhaltensfunktionen von Nebenkomponten auszuschließen. Ausgehend vom vollständigen Gemisch konnte bei dieser Art je eine der sechs Nebenkomponten weggelassen werden, ohne damit das Verhalten der Männchen wesentlich zu ändern (Linn et al., 1984). Diese bei *T. ni* beobachtete "Redundanz des Weibchenpheromons" ist allerdings, wie die Existenz einer "obligatorischen" Nebenkomponten bei *C. pronubana* zeigt, nicht auf alle Arten übertragbar.

Die Dauer der erfolgreichen Anflüge an die Köder nahm bei allen Mischungen mit der Alkoholdosis zu. Bei den quaternären Mischungen war diese Erhöhung allerdings nicht mehr signifikant (Tab. 2); dies ist möglicherweise auf die gemeinsame synergistische Wirkung der beiden Acetate, eventuell aber auch auf die unterschiedlichen Z11-14:Ac- Dosen zurückzuführen. Bei *Grapholita molesta* wird das sexuelle Männchenverhalten mit einer Beimischung von 6% E8-12:Ac und 10% Z8-12:OH zur Hauptkomponente Z8-12:Ac ausgelöst, wobei die Dauer der Orientierungsflüge mit zunehmender Alkoholdosis laufend zunimmt (Linn und Roelofs, 1983). Die Beobachtungen an *C. pronubana* zeigen jedoch deutlich, daß diese Zunahme der Flugdauer nur mittelbar die Unterschiede der mit hohen und niederen Alkoholdosen beobachteten Modifikation der Flugspuren wiedergibt: Hohe Dosen reduzierten die Amplitude der horizontalen und vertikalen Auslenkungen senkrecht zur Windrichtung und setzten die Nettofortbewegung gegen den Wind stark herab (langsame, enge Trajektorien). Niedere Alkoholdosen resultierten in weit ausladenden Flügen mit rascher Landung am Köder.

Diese Beobachtungen erlauben es nun aber nicht, den Alkohol etwa als "Flugkomponente" anzusprechen, dh. als diejenige Komponente, die in erster Linie den Orientierungsflug auslöst. Der Alkohol beeinflusste vielmehr nicht nur den Flug, sondern auch alle anderen Teile der Verhaltenssequenz, wie Aktivierung oder Flügelschwirren im Käfig und auf der Quelle. Andererseits wird auch bei hohen E11-14:Ac- und Z9-14:Ac-Zugaben eine Modifikation der Flugspuren sichtbar, wobei sich allerdings die mit diesen beiden Komponenten beobachteten Veränderungen qualitativ klar von den vom Alkohol induzierten Modifikationen unterscheiden. Die beiden Acetate beeinflussten zB. nicht in signifikanter Weise die Anflugdauer, bei hohen nicht-optimalen Dosen stiegen die Amplituden der Flugspuren und die Häufigkeit von Richtungswechseln stark an (zackige, weite Flugspuren).

Diese unausgeglichene, "hektischen" Flüge der *C. pronubana*-Männchen ähneln in auffälliger Weise den bei *Coleophora laricella* mit Lockstoff/Hemmstoff-Mischungen induzierten "Inhibitorflügen" (Priesner und Witzgall, 1984, Witzgall und Priesner, unveröff.). Wie bei reinen Lockstoffanflügen von *C. laricella* (Witzgall und Priesner, 1984) sind die Aufwindflüge der *C. pronubana*-Männchen bei optimalen Gemischen sehr geradlinig, ein sog. "Zickzackflug" konnte nie beobachtet werden. Analoges beobachteten Palaniswamy et al. (1983) in Windkanalversuchen mit *Euxoa ochrogaster* beim Vergleich optimaler und nicht-optimaler Pheromonmischungen.

Auf Grund von zweidimensionalen Videoaufnahmen (Projektion der dreidimensionalen Trajektorie auf eine Ebene) werden Anflüge von Schmetterlingsmännchen an Pheromonquellen in der angloamerikanischen Literatur als "Zickzackflüge" beschrieben. Die beobachteten, alternierenden seitlichen Exkursionen seien auf ein "inneres, selbstgesteuertes Programm von Gegenwendungen" zurückzuführen; der zugrundeliegende Orientierungsmechanismus wird als Anemomenotaxis bezeichnet (Kennedy 1983, 1986, Baker, 1986, David, 1986, Willis und Baker, 1987). Neueren Untersuchungen von Preiss und Kramer (1986) zufolge, ist die Existenz einer "Menotaxis", d.h. einer inneren Steuerung der Zickzackflüge fraglich. Die beobachteten seitlichen Exkursionen wären demzufolge lediglich auf die seitliche Verdriftung der Falter durch den Wind zurückzuführen, da die Tiere, vor allem bei turbulenten Windbedingungen, nie exakt gegen die Windrichtung anfliegen können.

Die oben genannte Beobachtung, daß männliche Falter von *C. pronubana* an Pheromonquellen optimaler Zusammensetzung beinahe geradlinig, unter Einfluß von Hemmstoff oder "off-blends" jedoch mit großen, häufigen Auslenkungen anfliegen, könnte in diesem Zusammenhang zu deuten sein. Bei *Lymantria dispar* reduziert die Beimengung eines Inhibitors zum Sexuallockstoff die Stabilisierung der Flughöhe und Fluggeschwindigkeit (Preiss und Kramer, 1983).

Bei gegebener Dosis der Hauptkomponente bewirkte jegliche Abweichung vom optimalen Mischungsverhältnis durch Zu- oder Abnahme einer der drei NebenkompONENTEN eine veränderte Ausprägung der gesamten Verhaltenssequenz der *C. pronubana*-Männchen. Die Beobachtungen weisen auf einen qualitativ unterschiedlichen Beitrag der einzelnen Komponenten zur Wirkung des Pheromonsignals hin.

Die Möglichkeit, durch Überdosierung einzelner Komponenten Teile der Verhaltenssequenz spezifisch zu beeinflussen, könnte für die Anwendung von Pheromonen im Rahmen der sogenannten "Verwirrungsmethode" von größter Bedeutung sein. Bei dieser flächendeckenden Anwendung von Pheromon in landwirtschaftlichen Kulturen wird versucht, die chemische Kommunikation zwischen Männchen und Weibchen zu stören oder ganz zu unterbinden. Bisher ist noch ungeklärt, ob eine bestmögliche Nachahmung des vom Weibchen emittierten Pheromons, oder aber ein "falsches", unproportioniertes Gemisch derselben Komponenten die besten Ergebnisse liefert (Bartell, 1982). Hier könnte es von Wichtigkeit sein, bestimmte Teile der Verhaltenssequenz der Männchen wie etwa ihren Orientierungsflug oder ihr Landeverhalten gezielt zu modifizieren. Für die Klärung dieser Frage ist eine detaillierte Analyse der gesamten Verhaltenssequenz der Männchen von unmittelbarer Bedeutung. Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit bilden eine notwendige Grundlage, auch für diese weiteren Untersuchungen.

5. Gesamtdiskussion

Insektenpheromone bestehen im allgemeinen aus Mischungen mehrerer chemischer Komponenten. Selbst für Pheromone, die über lange Zeit hinweg als Einkomponentensysteme galten, wurden in den letzten Jahren durch gezielte Untersuchungen verhaltenswirksame Nebenbestandteile bekannt; als Beispiele unter den Lepidopteren können etwa die weiblichen Sexualpheromone des Apfelwicklers *Cydia pomonella* (Roelofs et al., 1971, Beroza et al., 1974, Einhorn et al., 1984, 1986, 1988, Arn et al., 1985) oder der Gemüseeule *Trichoplusia ni* (Berger, 1966, Bjostad et al., 1984, Linn et al., 1984) aufgeführt werden.

Bei den meisten näher untersuchten Arten dieser Insektenordnung liegt sogar ein obligatorischer Pheromon-Synergismus vor: bestimmte Verhaltensantworten (zB. Gegenwindanflüge) des Empfängerindividuums treten nur auf, wenn mehrere Bestandteile des Pheromonsekrets gleichzeitig geboten werden (Roelofs und Cardé, 1977, Cardé, 1979, Cardé und Charlton, 1984, Palaniswamy et al., 1983, Priesner, 1984, Linn und Roelofs, 1983, 1985, Linn et al., 1986, Arn, 1988). Die funktionelle Analyse solcher Mehrkomponentensysteme bildet ein zentrales Anliegen heutiger pheromonbiologischer Forschung.

In der vorliegenden Arbeit wurde versucht, am Beispiel des Nelkenwicklers *Cacoecimorpha pronubana* einige Fragen, die für ein Verständnis der Funktionsweise von Mehrkomponenten-Pheromonen bei Schmetterlingen von grundsätzlicher Bedeutung sein sollten, einer Klärung zuzuführen. Dabei wurde der Schwerpunkt bewußt auf Aspekte gelegt, die sich bisher vor allem aus methodischen Gründen einer Analyse entzogen. Es betrifft dies u.a. die Beziehung zwischen produzierten und freigesetzten Pheromonkomponenten; die intraindividuelle Variation des emittierten Pheromonsignals in Abhängigkeit von Lebensalter und physiologischem Zustand; die interindividuelle Variation der Pheromonsignale der Weibchen einer Population; die Funktion der einzelnen chemischen Komponenten des Signals bei der Steuerung des männlichen Verhaltensablaufs; oder die Antwortbreite der Männchen gegenüber Pheromonreizen in Abhängigkeit von der Variationsbreite der Duftsignale der Weibchen. Die Ergebnisse sollen hier nochmals zusammenfassend betrachtet, dem bisherigen Wissensstand auf diesem Gebiet zugeordnet, und Ansätze für weiterführende Studien aufgezeigt werden.

Die Untersuchung des Pheromonsystems von *C. pronubana* mußte in mehreren Stufen erfolgen, auf denen sehr unterschiedliche Methoden und Arbeitsweisen zum Einsatz kamen.

Der erste Arbeitsschritt war notwendigerweise die chemische Identifikation aller pheromonähnlichen Inhaltsstoffe der Weibchendrüse. Für diesen Arbeitsschritt wurde mit Massenspektrometrie gekoppelte Gaschromatographie eingesetzt. Die chemische Analyse führte zum Nachweis einer Reihe von aliphatischen Alkoholen und Acetaten der Kettenlänge C12, C14 und C16. Die mengenmäßig überwiegenden Verbindungen waren 14:Ac (5-6%), Z9-14:Ac (1-2%), E11-14:Ac (5-6%), Z11-14:Ac (78%) und Z11-14:OH (4-5%) (Tab. 1, Abb. 1).

Für die nachfolgenden Verhaltensstudien war es wesentlich, diese in der Pheromondrüse produzierten mit den vom lockenden Weibchen auch tatsächlich nach außen abgegebenen Substanzen (Effluvia) zu vergleichen. Verschiedene Autoren berichten nämlich von einer Diskrepanz zwischen Drüseninhalt und Drüsenemission (McDonough und Kamm, 1979, Silk et al., 1980, Cory et al., 1982, Löfstedt et al., 1982, Silk et al., 1982, Bjostad et al., 1984, Daterman et al., 1984, Silk et al., 1985, Teal et al., 1985, 1986 Tumlinson et al., 1986). Dies ist in manchen Fällen sicherlich auf ungenügende Methoden zur Messung der Effluvia zurückzuführen (Silk et al., 1982), die es nicht erlauben, auch die minoritären Pheromonkomponenten verlässlich zu erfassen (Golub und Weatherston, 1984).

Tortricidenweibchen emittieren meist nur wenige ng Pheromon pro Stunde (Baker et al., 1980, Ramaswamy und Cardé, 1984). Adsorbiert man solche Effluvia auf Materialien mit sehr großen Oberflächen (Aktivkohle, Porapak Q, etc.), impliziert dies nicht nur Pollution durch den Träger selbst, sondern auch durch das zur Desorption benutzte Lösungsmittel. Zudem muß überflüssiges Lösungsmittel vor der chemischen Analyse durch Verdampfen entfernt werden, woraus weitere Verluste resultieren. Dies machte die Entwicklung verbesserter Verfahren notwendig.

Wie verschiedene Vorversuche gezeigt hatten, waren bei *C. pronubana* Glaskapillaren für eine effiziente Adsorption der Pheromonkomponenten am besten geeignet. Weitere Vorversuche mit synthetischen Pheromonquellen und Beobachtungen lockender Weibchen führten zu dem in Tab. 2 gezeigten System zur Pheromonadsorption.

Mit dieser Methode wurde zunächst die Drüsenemission mehrerer Weibchen über zwei Stunden hinweg kumuliert, um deren qualitative Zusammensetzung mit Drüsenextrakten lockender Weibchen derselben Testpopulation zu vergleichen. Es zeigte sich, daß bei *C. pronubana* alle Pheromonkomponenten vor der Emission bereits in der Drüse, bzw. an der Drüsoberfläche vorhanden sind, und sogar in fast denselben Proportionen vom lockenden Weibchen nach außen abgegeben werden (Tab. 1).

Dieser Befund war keineswegs vorauszusetzen. Anders als bei *C. pronubana* werden zB. bei den Noctuidenarten *Heliothis virescens* und *Mamestra brassicae* in der Pheromondrüse produzierte Komponenten unmittelbar vor der Emission an der Drüsenoberfläche enzymatisch umgebaut; die eigentlichen verhaltenswirksamen Pheromonkomponenten können bei diesen Arten in den Drüsenextrakten nicht nachgewiesen werden (Teal und Tumlinson, 1986, Bestmann et al., 1987).

Über die proportionale Zusammensetzung des emittierten Pheromonbouquets eines Schmetterlingsweibchens in Abhängigkeit vom Tagesverlauf ist fast nichts bekannt (Golub und Weatherston, 1984). Mit der neu entwickelten Methode zur Adsorption der Effluvia gelang es zum ersten Mal, das von einem einzelnen Weibchen emittierte Pheromonsignal einschließlich seiner minoritären Komponenten innerhalb kurzer Intervalle über die ganze Rufperiode hinweg zu messen (Abb. 3, 4).

Diese Messungen individueller Weibcheneffluvia führten zu zwei äußerst wichtigen Befunden: Zum einen zeigte sich, daß individuelle Weibchen über das ganze Leben hinweg die Pheromonkomponenten in konstanten Proportionen emittieren. Die Enzymaktivitäten, welche die Isomerenverhältnisse zwischen den Pheromonkomponenten steuern, scheinen also für ein Individuum während des ganzen Lebens konstant zu bleiben und somit die Emission der Komponenten in konstanten Proportionen zu sichern.

Zum anderen konnte zum ersten Mal gezeigt werden, daß zwischen den Individuen derselben Population einer Schmetterlingsart Polymorphismus hinsichtlich der Proportionen bestimmter Komponenten des Pheromonbouquets besteht, während andere Komponenten kaum variieren: Der Anteil des Z9-14:Ac gegenüber den Δ 11-Komponenten (E11-14:Ac, Z11-14:Ac, Z11-14:OH) variierte zwischen den untersuchten *C. pronubana*-Weibchen beträchtlich, während die interindividuelle Variation der Proportionen der Δ 11-Komponenten gering war (Abb. 4). Dies ist wohl in erster Linie darauf zurückzuführen, daß die Biosynthese von E11-14:Ac, Z11-14:Ac und Z11-14:OH in den Pheromondrüsen von Tortriciden weitgehend gemeinsam abläuft (Bjostad und Roelofs, 1981, Bjostad et al., 1987), während die letzten Schritte der biosynthetischen Produktion des Z9-14:Ac und der Δ 11-14-Komponenten verschieden sind (Bjostad et al., 1984).

Bei *C. pronubana* treten in Drüse wie Effluvium zusammen mit fast allen Acetatkomponenten auch die entsprechenden Alkohole auf, und zwar in einem dem Acetatanteil entsprechenden Verhältnis (Tab. 1). Dies läßt mit Vorbehalt auf eine unspezifische Umwandlung der Acetate zu Alkoholen schließen. Dafür spräche auch der leichte Anstieg des Z11-14:OH-Gehalts sowohl in den Drüsen wie in den Effluvia gegen Ende der Lockperiode (Abb. 7, Tab. 2).

Eine unspezifische enzymatische Transformation von Aldehyden zu Alkoholen (Teal und Tumlinson 1986, 1987, Tumlinson und Teal, 1987), bzw. von Alkoholen zu Acetaten (Bestmann et al., 1987) als letzter Schritt der Biosynthese auf der Oberfläche von Pheromondrüsen ist bekannt. Wie die jetzigen Befunde an *C. pronubana* zeigen, scheint auch eine unspezifische Bildung von Alkoholen aus Acetaten auf der Drüsenoberfläche vorzukommen. Für diese Vorstellung spricht auch die Abnahme des Alkoholanteils in den Drüsen nach Ende der Lockperiode bei etwa gleichbleibendem Drüseninhalt.

Ein wie in Abb. 5 dargestellter Vergleich des Tagesgangs von Drüseninhalt und Drüsenemission existiert bisher nicht. Auf Grund der Schwierigkeiten, die Effluvia innerhalb kurzer Zeiträume zu messen, war bisher nur der Vergleich von Drüseninhalt individueller Weibchen mit dem Lockverhalten anderer Weibchen derselben Testpopulation zur selben Tageszeit möglich (Sower et al., 1972, Webster und Cardé, 1982, Konno, 1986, Raina et al., 1986, Snir et al., 1986, Deslisle und McNeil, 1987 a, Dunkelblum et al., 1987). Erst die jetzigen Untersuchungen zeigen eindeutig, daß Produktions- und Emissionszyklus zeitlich übereinstimmen.

Auffällig ist bei *C. pronubana* der starke Anstieg der Drüseninhaltsstoffe unmittelbar vor Beginn der Lockperiode. Dies wurde auch bei einer weiteren Tortricidenart, *Platynota stultana*, festgestellt (Webster und Cardé, 1982). Unmittelbar nach Exposition der Drüse steigt bei den untersuchten *C. pronubana*-Weibchen die Emission stark an. Leichtes Einziehen des Hinterleibs, bzw. Beendigung der Lockperiode beeinflusst die Emission stark, bzw. beendet sie (Abb. 3). Die Emissionsraten bleiben über den größten Teil der Lockperiode hinweg auf einem konstant hohen Niveau. Die gesamt abgegebene Menge beträgt ein Vielfaches des Drüseninhalts zu Beginn des Lockzyklus und weist somit auf eine hohe biosynthetische Aktivität des Drüsenorgans während der gesamten Lockphase hin.

Die Pheromondrüse von Tortriciden besteht aus umgeformten Epidermalzellen der Intersegmentalmembran zwischen 8. und 9. Hinterleibssegment (Percy und Weatherston, 1974, Tamaki, 1985). Bei *C. pronubana* ist die Drüse als dorsale Ausstülpung sichtbar. Die allgemein bei Tortriciden stark strukturierte Oberfläche der Drüse verhindert eine Pheromonemission bei invertierter Drüse (Percy-Cunningham und MacDonald, 1987) und macht somit den engen Zusammenhang zwischen Lockverhalten (Drüsenexposition) und Pheromonemission, sowie den raschen Anstieg der Emissionsraten nach Drüsenexposition verständlich.

Die reproduktive Aktivität folgt bei Lepidopteren im allgemeinen einem endogenen Rhythmus, der durch die Photoperiode und Umweltfaktoren gesteuert und modifiziert wird (Cardé und Webster, 1980). Tagesrhythmen der Pheromonproduktion bzw. der Männchenreaktion und deren Beeinflussung durch Umweltfaktoren wurden an einer Reihe von

Lepidopterenarten untersucht (zB. Cardé und Roelofs, 1973, Marks 1976, Baker und Cardé, 1979 a, Castrovillo und Cardé, 1979, Witzgall, 1985, Schal und Cardé, 1986, Deslisle und McNeil, 1987 b, Gerber und Howlader, 1987).

Wie jetzt bei *C. pronubana* gezeigt werden konnte, besteht auch eine deutliche Korrelation zwischen Drüsentiter und Lockverhalten bzw. Pheromonemission: Der Drüseninhalt steigt kurz vor Beginn der Emissionsphase stark an; andererseits enthalten Drüsen von Weibchen, die ihre Lockphase beendet haben, nur geringe Pheromonmengen (Abb. 5). Inwieweit Retraktionsphasen der Drüse, die auch während der Rufperiode beobachtet werden, mit einer Erschöpfung des Drüseninhalts korreliert sind, bleibt vorerst ungeklärt.

Beim Eulenfalter *Heliothis zea* ist offensichtlich ein im *Suboesophagus* oder in den *Corpora cardiaca* produziertes Neuropeptid für die endogene Steuerung der Pheromonproduktion in der Drüse verantwortlich; die Sekretion des Neuropeptids wird durch die Photoperiode induziert (Raina et al., 1987, Raina und Menn, 1987). Das Rufverhalten wird, wie am Schwammspinner *Lymantria dispar* und Tabakswärmer *Manduca sexta* gezeigt wurde, vom terminalen Abdominalganglion gesteuert (Hollander und Yin, 1982, 1985, Itagaki und Conner, 1986). Über Mechanismen, die die Pheromonproduktion mit dem Lockverhalten der Weibchen korrelieren, ist bisher nichts bekannt.

Nach der chemischen Identifikation und der Bestimmung des tageszeitlichen Verlaufs von Produktion und Emission war die Untersuchung der Verhaltenswirksamkeit der nächste, für die biologische Charakterisierung der Pheromonkomponenten von *C. pronubana* obligatorische Arbeitsabschnitt.

In früheren Jahren kamen in vielen Fällen Biotests zur Anwendung, die nur die Beobachtung eines Teils der Verhaltenssequenz, wie etwa Aktivierung und Flügelschwirren der Männchen in Betracht zogen (Gaston und Shorey, 1964). Heute werden dagegen vielfach Windkanäle eingesetzt, welche die Beobachtung der verschiedenen Teile der Verhaltenssequenz (Aktivierung, Aufwindanflug, Landung, Kopulationsverhalten; Bartell, 1977) ermöglichen (Baker und Linn, 1984). Von den dabei beobachteten Verhaltensreaktionen erweisen sich besonders der Beginn des Orientierungsflugs sowie die erfolgreiche Landung am Köder als günstige Kriterien zur Unterscheidung der Attraktivität von Pheromongemischen (Linn und Roelofs, 1983, Linn et al., 1984, 1986, 1988).

Auch bei *C. pronubana* wurden für die Bestimmung der Verhaltenswirksamkeit der identifizierten Komponenten bevorzugt Orientierungsflug und Landung beobachtet. Die vier eingehend untersuchten chemischen Komponenten waren Z11-14:Ac, E11-14:Ac, Z9-14:Ac

und Z11-14:OH. Sie wurden in binären, ternären und quaternären Mischungen angeboten; die Dosis der einzelnen Komponenten wurde schrittweise verändert.

Das Attraktionsoptimum für Z9-14:Ac, E11-14:Ac, Z11-14:Ac, Z11-14:OH wird bei einem Mischungsverhältnis von 3:3:100:30 erreicht. Zusätzlich zu den Δ 11-Komponenten, deren Verhaltenswirksamkeit für *C. pronubana*-Männchen aus Olfaktometer- und Fallenversuchen bereits bekannt war (Descoins et al., 1985), zeigte sich also auch eine synergistische Wirkung des Z9-14:Ac, dessen Zusatz zur bestwirksamen Mischung der drei Δ 11-Komponenten die Anflugrate deutlich erhöhte. Während der Vergleich der Attraktivität verschiedener ternärer und quaternärer Mischungen für die Δ 11-Komponenten jedoch ein klar definiertes Attraktionsoptimum zeigt, erweist sich das Z9-14:Ac über einen weiten Dosisbereich hinweg als Synergist (Abb. 9, 10).

Stellt man dieses Ergebnis der Messung der Effluvia individueller Weibchen gegenüber, so zeigt sich ein bemerkenswerter Zusammenhang: Der Bereich optimaler synergistischer Wirksamkeit der drei Nebenkomponten im Windkanal stimmt mit der Variationsbreite der Weibcheneffluvia überein (Abb. 4). Ein ähnlicher Zusammenhang wurde bisher für keine andere Insektenart aufgezeigt.

Bei den Tortriciden dienen Pheromone in erster Linie der Attraktion art eigener Männchen. Durch ihre hohe Spezifität spielen diese Sexualpheromone zugleich eine bedeutende Rolle bei der reproduktiven Isolation sympatrischer Arten (Roelofs und Cardé, 1974, Roelofs und Brown, 1982). Bei einer Reihe von Arten der Gattung *Grapholita* etwa besteht das weibliche Pheromon jeweils überwiegend aus einem artspezifischen Gemisch von Z8-12:Ac und E8-12:Ac (*G. funebrana* 95:5, *G. molesta* 90:10, *G. janthinana* 80:20, *G. prunivorana* 20:80; Biwer und Descoins, 1978, Cardé et al., 1979, Guerin et al., 1986 b, Witzgall et al., 1988). Andere Tortriciden benutzen spezifische E11-14:Ac/Z11-14:Ac-Mischungen als Pheromon oder Pheromonbestandteil (Übersicht bei Priesner, 1985).

Für die sexuelle Isolation von *C. pronubana* gegenüber verwandten Arten wäre deshalb in erster Linie eine konstante Emission eines spezifischen Mischungsverhältnisses der Δ 11-Komponenten und eine darauf abgestimmte Männchenreaktion zu fordern. Tatsächlich zeigen die jetzt vorgelegten Ergebnisse, daß die emittierten Δ 11-Proportionen für alle individuell geprüften Weibchen sehr ähnlich sind, und daß andererseits die optimale Männchenreaktion genau mit diesem emittierten Mischungsverhältnis erzielt wird (Abb. 4, 9, 10).

Die genetischen Grundlagen einer solchen engen Korrelation von Pheromonreaktion (Männchen) und Pheromonproduktion (Weibchen) sind noch weitgehend ungeklärt. Bei Kreu-

zungsversuchen zwischen Pheromonrassen des Maiszünslers *Ostrinia nubilalis* und Tannentriebwicklern der Gattung *Choristoneura* ergaben sich Hinweise darauf, daß Pheromonproduktion und -perzeption zumindest teilweise auf dem gleichen autosomalen Genlocus kodiert sind (Sanders et al., 1977, Klun und Maini, 1979, Lanier et al., 1980, Hansson et al., 1987, Roelofs et al. 1987).

Durchaus unerwartet war jedoch die starke interindividuelle Variabilität des Z9-14:Ac-Anteils in den Effluvia der *C. pronubana* Weibchen, verbunden mit einem ungewöhnlich breiten Bereich synergistischer Wirksamkeit dieser Substanzen im Verhaltenstest (Abb. 4, 9, 10).

Dieser Befund kann als weiteres Beispiel eines innerartlichen Pheromon-Polymorphismus eingestuft werden. Ein innerartlicher Polymorphismus hinsichtlich Produktion und/oder Perzeption des weiblichen Sexualpheromons ist für geographisch getrennte Populationen von *Ostrinia nubilalis* (Kochansky et al., 1975, Buechi et al., 1982, Roelofs et al., 1985, Peña et al., 1988), *Agrotis segetum* (Arn et al., 1983, Löfstedt et al., 1985 a, b, Löfstedt et al., 1986) oder *Amorbia cunea* (Bailey et al., 1986) belegt. Bei Wirtsrassen des Lärchenwicklers *Zeiraphera diniana* könnte Pheromonpolymorphismus eine bedeutende Rolle bei der Dynamik des beobachteten Massenwechsels spielen (Guerin et al., 1984, Priesner und Baltensweiler 1987 a, b).

Im Gegensatz zu den genannten Beispielen stammten die untersuchten Nelkenwickler jedoch alle aus einer Population. Es stellt sich daher die Frage nach einer möglichen Bedeutung dieser Variabilität des Z9-14:Ac-Gehalts.

Für die innerartliche Kommunikation ist es nötig, daß die Männchen einer Falterart das Pheromonsignal des art eigenen Weibchens erkennen und darauf mit bestimmten Verhaltensweisen reagieren. Die Abgabe der $\Delta 11$ -Komponenten in engen Proportionen würde bei *C. pronubana* diese Voraussetzung erfüllen, da diese drei Komponenten in entsprechender Kombination Aktivierung, Aufwindanflüge und Landung der Männchen an der Quelle auslösen.

Daneben ist der Pheromondialog jedoch auch ein Prozess, bei dem möglicherweise sexuelle Selektion stattfindet. Dabei könnte das Weibchen bestimmte männliche Eigenschaften prüfen, die für die Nachkommenschaft von Bedeutung sind (Schneider, 1983, 1984 b, West-Eberhard, 1984, Eisner und Meinwald, 1987). Bei *C. pronubana* könnte sexuelle Selektion beim Anflug der Männchen, aber auch im Nahbereich vor Einleitung des Kopulationsverhaltens stattfinden. Inwieweit Produktion und Perzeption unterschiedlicher $\Delta 11$ /Z9-14:Ac-Proportionen in diesem Zusammenhang eine Rolle spielen, müssen weitere Untersuchungen zeigen.

Erwähnenswert ist in diesem Zusammenhang, daß Tortriciden-Weibchen am Lebensende oft mehr Pheromon emittieren als jüngere und über längere Zeit hinweg locken, obwohl die Drüsen älterer Weibchen weniger Pheromon beinhalten (Cardé und Webster, 1980, Kuwahara et al., 1983, Raina et al., 1986, Snir et al., 1986, Dunkelblum et al., 1987, Swaby et al., 1987). Dies gilt auch für *C. pronubana* (Abb. 5, Abb. 6, Tab. 2a). Bei vielen Lepidopterenarten ist zudem eine Vorverlegung und Verlängerung der Ruferiode mit dem Alter bekannt (Castroville und Cardé, 1979, Turgeon und McNeil, 1982, Aliniaze, 1983, Schal und Cardé, 1986, Snir et al., 1986, Delisle und McNeal, 1987a, Dunkelblum et al., 1987, Gerber und Howlader, 1987, Kou und Chow, 1987, Swaby et al., 1987). Greenfield (1981) vermutet, daß die Fähigkeit des Männchens, kleinste Mengen an Pheromon wahrzunehmen für die sexuellen Selektion von Bedeutung sein könnte. Eine zunehmende "Attraktivität" älterer Weibchen könnte in diesem Zusammenhang als abnehmende Selektivität ausgelegt werden.

Die Frage nach spezifischen Verhaltensfunktionen einzelner Bestandteile des Pheromonbouquets eines Schmetterlingsweibchens ist bisher trotz wiederholter experimenteller Ansätze nicht eindeutig geklärt. Bei manchen Arten konnten Landung und Kopulationsverhalten erst nach Zugabe minoritärer Komponenten zur Hauptkomponente beobachtet werden. Deshalb wurden Hauptkomponenten oft als Flugkomponenten, Nebekomponenten als Landung oder Paarungsverhalten auslösende Komponenten beschrieben (Nakamura; 1981, Kawasaki, 1981, 1986, Bradshaw et al., 1983, Toth et al., 1984, Ono, 1985).

Dagegen ist jedoch einzuwenden, daß der Vergleich von Gemischen unterschiedlicher Komplexität keine eindeutigen Rückschlüsse auf die Verhaltenswirksamkeit einzelner Komponenten erlaubt, da der Einfluß einer zusätzlichen Komponente nicht losgelöst von den übrigen Komponenten betrachtet werden kann. Bei *C. pronubana* hatte die Zugabe von Z11-14:OH zu Z11-14:Ac, desgleichen von Z9-14:Ac oder E11-14:Ac zu binären Mischungen von Z11-14:Ac/Z11-14:OH einen starken Anstieg der erfolgreichen Köderanflüge zur Folge (Abb. 8, 9). Keine dieser Komponenten könnte deshalb als Flug- oder Landekomponente interpretiert werden; tatsächlich führen vollständigere Mischungen mit einer wachsenden Zahl von beteiligten Komponenten zu einer immer besseren Ausprägung der gesamten Verhaltenssequenz.

Selbst Lockstoffinhibitoren entfalten ihre Wirkung oft nur in Beimengung zum Lockstoff. Bei der Lärchenminiermotte *Coleophora laricella* hatte ein starker Inhibitor für sich allein genommen, oder selbst in kleinsten räumlichen Abständen von Lockstoffquellen, nur geringe Verhaltenswirksamkeit, während er in Beimengung zum Lockstoff bereits in Anteilen von 3%

den Anflug männlicher Falter völlig blockierte (Priesner und Witzgall, 1984, Witzgall und Priesner, 1989)

Eine Möglichkeit, den individuellen Einfluß einzelner Synergisten dennoch zu beurteilen, bestünde darin, ihren Anteil im vollständigen Gemisch schrittweise zu verändern. Bei *C. pronubana* hatten derartige Beobachtungen mit Ködern, die alle vier Komponenten in wechselnden Anteilen enthielten, tatsächlich Hinweise darauf ergeben, daß sich die einzelnen Komponenten des Pheromonbouquets hinsichtlich ihrer verhaltensphysiologischen Funktion unterscheiden (Abschnitt 4). Indiz dafür ist zB. der unterschiedliche, charakteristische Einfluß der Nebenkompenten auf das Flugverhalten: Erhöhung des Z9- oder E11-Gehalts führt zu zackigen, weitausladenden Trajektorien und hohen Fluggeschwindigkeiten; dagegen haben hohe Alkoholdosen langsame, eher geradlinige Flüge zur Folge (Abschnitt 4, Tab. 3). Die Unterschiede bezüglich der unterschiedlichen Breite des Attraktionsoptimums der $\Delta 11$ -Komponenten und des Z9-14:Ac könnten als weiterer Hinweis auf funktionelle Unterschiede zwischen den Bestandteilen des Pheromongemisches gelten.

Allerdings muß dabei bedacht werden, daß in Fig. 9 die Anflüge von je 70 Männchen pro Meßpunkt dargestellt sind. Diese gemittelte Verhaltensreaktion bezieht sich also auf die gesamte Population und kann keine Auskunft über das Reaktionsspektrum einzelner Tiere geben. Es bleibt also offen, ob individuelle *C. pronubana*-Männchen der Variation der Pheromonemission aller Weibchen angepaßt sind, also auf alle arteigenen Weibchen voll ansprechen, oder ob die Männchenpopulation hinsichtlich der Reaktion auf die Z9-14:Ac-Komponente heterogen ist.

Für ein besseres Verständnis dieses wichtigen Zusammenhanges ist es sicher unumgänglich, mehr Augenmerk auf die Verhaltensreaktion individueller Männchen zu richten. Da wegen der kurzen Lebensdauer der Tiere und der Habituation der Verhaltensantwort nach vorrausgegangenen Reizen (Traynier, 1970, Bartell und Lawrence, 1973, Cardé, 1979, Cardé und Webster, 1980) nur eine begrenzte Anzahl von Versuchen am selben Individuum durchgeführt werden kann, muß der Verhaltenstest und die Dokumentation der Männchenreaktion so verbessert werden, daß diese wenigen Versuche möglichst viel Information liefern.

Eine Möglichkeit bietet hier die automatische, elektronische Aufzeichnung der Verhaltenssequenz, vor allem des Orientierungsflugs. Die charakteristische Modifikation von Flugspuren in Abhängigkeit vom gebotenen Köder wurde wiederholt beobachtet bzw. ansatzweise mit Videoaufnahmen belegt (Mankin et al., 1983, Palaniswamy et al., 1983, Priesner und Witzgall, 1984, Witzgall und Priesner, 1989). Darüberhinaus zeigen die Flugspuren von Männchen, die unter gleichen Bedingungen mehrmals zum selben Köder anfliegen, überraschend große

individuelle Konstanz, während Veränderungen der Köderzusammensetzung die Flugspur charakteristisch modifizieren (Witzgall, unveröff.).

Dieses Verfahren könnte es erlauben, den Einfluß einzelner Pheromonkomponenten nicht nur für Populationen, sondern auch für einzelne Männchen genauer zu erfassen, als dies bisher möglich war. Damit sollte sich u.a. entscheiden lassen, ob innerhalb einer Männchenpopulation tatsächlich ein Polymorphismus der Pheromonantwort vorliegt, der mit der interindividuellen Variation der Pheromonproduktion der Weibchen korrespondiert. In Weiterführung der Arbeiten an *C. pronubana* soll daher die Flugspuranalyse individueller Männchen im Vordergrund stehen.

Zusammenfassung

Die verhaltenswirksamen Bestandteile des Sexualpheromons des Nelkenwicklers *C. pronubana* wurden anhand von Extrakten weiblicher Pheromondrüsen und deren Effluvia chemisch identifiziert. Die Effluvia einzelner Weibchen wurden in Hinblick auf mögliche zeitliche Änderungen und interindividuelle Unterschiede untersucht. Die Verhaltensfunktionen der einzelnen Komponenten und ihrer Mischungen wurden an männlichen Faltern im Windkanal geprüft.

Drüse wie Effluvium enthalten eine Reihe von aliphatischen Alkoholen und Acetaten der Kettenlänge C12, C14 und C16. Vier mengenmäßig überwiegenden Komponenten Z-9-Tetradecenylacetat (1-2%), E-11-Tetradecenylacetat (5-6%), Z-11-Tetradecenylacetat (78%) und Z-11-Tetradecen-1-ol (4-5%) beeinflussen das sexuelle Verhalten der männlichen Falter und sind somit als Bestandteile des Sexualpheromons zu bezeichnen. Ein Gemisch dieser Substanzen (Z9-14:Ac/ E11-14:Ac/ Z11-14:Ac/ Z11-14:OH) im Verhältnis von 3:3:100:30 löst bei einem maximalen Anteil von Männchen die gesamte sexuelle Verhaltenssequenz aus.

Das einzelne Weibchen emittiert während des ganzen Lebens diese vier Komponenten in einer sehr konstanten Proportion; dies gilt für dieselbe mehrstündige Lockphase wie für verschiedene Lebensstage. Im Mittel aller verglichenen Weibchen beträgt diese Proportion 2:6:100:9. Dabei variiert das Mengenverhältnis der Δ 11- Komponenten E11-14:Ac/ Z11-14:Ac/ Z11-14:OH zwischen den Weibchen kaum, während der Anteil an Z9-14:Ac innerhalb der Population erheblich schwankt. Die sehr konstante E11/Z11-14:Ac- Emission dürfte für die reproduktive Isolation gegen nahe verwandte Arten, die ein anderes Mengenverhältnis dieser beiden Substanzen produzieren, eine wichtige Rolle spielen.

Als Einzelsubstanz löst im Windkanal nur die Pheromon-Hauptkomponente Z11-14:Ac Anflüge der männlichen Falter aus, wenn auch erst in Überdosierung. Bei den der Emission individueller Weibchen entsprechenden Dosen ist zusätzlich auch die Anwesenheit des Alkohols Z11-14:OH obligatorisch für die Auslösung dieses Verhaltens. Eine weitere Beimischung von Z9-14:Ac (1-30%) und/oder E11-14:Ac (3%) erhöht die Attraktivität der Köder stark. Der Bereich optimaler synergistischer Wirksamkeit der drei Nebenkomponten im Windkanal entspricht dabei der Variationsbreite ihrer Anteile in den weiblichen Effluvia der untersuchten *C. pronubana*-Population.

- Aliniaze, M. T. 1983. Influence of environmental factors on daily flight activity of the filbertworm, *Melissopus latiferreanus* (Lepidoptera, Olethreutidae). *Ecol. Entomol.* 8, 241-248.
- Arn, H. 1988. The problem of chemical and behavioural complexity in the sex pheromones of Lepidoptera. *in: Médiateurs chimiques: comportement et systématique des Lépidoptères. Applications en agronomie. Valence, 13-14 décembre 1985, (C. Descoins und B. Frérot, eds.), Les Colloques de l'INRA n° 46, INRA Publ., pp. 15-19, Paris, 1986.*
- Arn, H., Esbjerg, P., Bues, R., Tóth, M., Szócs, G., Guerin, P., und Rauscher, S. 1983. Field attraction of *Agrotis segetum* males in four European countries to mixtures containing three homologous acetates. *J. Chem. Ecol.* 9, 267-276.
- Arn, H., Guerin, P. M., Buser, H.-R., Rauscher, S., und Mani, E. 1985. Sex pheromone blend of the codling moth, *Cydia pomonella*: evidence for a behavioural role of dodecan-1-ol. *Experientia* 41: 1482-1483.
- Arn, H., Rauscher, S., und Schmid, A. 1979. Sex attractant formulation and traps for the grape moth *Eupoecilia ambiguella* Hb. *Mitt. Schweiz. Entomol. Ges.* 52, 49-55.
- Arn, H., Tóth, M., und Priesner, E. 1986. List of sex pheromones of Lepidoptera and related attractants. OILB-SROP Publ., Paris 1986.
- Audemard, H., und Leblon, C. 1987. Control of *Cydia molesta* Busck and *Anarsia lineatella* Z. in peach orchard by the mating disruption technique. *in: Mating disruption: Behaviour of moths and molecules, Bulletin OILB-Srop, Vol. X, 3, p. 18-19.*
- Bailey, J. B., McDonough, L. M., und Hoffman, M. P. 1986. Western avocado leafroller, *Amorbia cuneana* (Walsingham), (Lepidoptera: Tortricidae): Discovery of populations utilizing different ratios of sex pheromone components. *J. Chem. Ecol.* 12, 1239-1245.
- Baker, T. C. 1986. Pheromone-modulated movements of flying moths. *in: Mechanisms in Insect Olfaction, (T. L. Payne, M. Birch, C. Kennedy, eds.), pp. 39-48, Clarendon Press, Oxford.*
- Baker, T. C., und Cardé, R. T., 1979 a. Endogenous and exogenous factors affecting periodicities of female calling and male sex pheromone response in *Grapholitha molesta* (Busck). *J. Insect Physiol.* 25, 943-950.
- Baker, T. C., und Cardé, R. T., 1979 b. Analysis of pheromone-mediated behaviors in male *Grapholitha molesta*, the oriental fruit moth (Lepidoptera: Tortricidae). *Environ. Entomol.* 8, 956-968.
- Baker, T. C., Cardé, R. T., und Miller, J. R. 1980. Oriental fruit moth pheromone component emission rates measured after collection by glass-surface adsorption. *J. Chem. Ecol.* 6, 749-758.

- Baker, T. C., Cardé, R. T., und Roelofs, W. L. 1976. Behavioral responses of male *Argyrotaenia velutinana* to components of its sex pheromone. *J. Chem. Ecol.* 2, 333-352.
- Baker, T. C., Gaston, L. K., Pope, M. M., Kuenen, L. P. S., und Vetter, R. S. 1981. A high-efficiency collection device for quantifying sex pheromone volatilized from female glands and synthetic sources. *J. Chem. Ecol.* 7, 961-968.
- Baker, T. C., und Linn, C. E. 1984. Wind tunnels in pheromone research. *in: Techniques in pheromone research*, (H. E. Hummel und T. A. Miller, eds.), pp. 75-110, Springer Verlag, Berlin, New York.
- Barrar, P. M., Lacey, M. J., und Shani, A. 1987. Variation in relative quantities of airborne sex pheromone components from individual female *Ephesia cautella* (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Chem. Ecol.* 13, 639-653.
- Bartell, R. J. 1977. Behavioural responses of Lepidoptera to pheromones. *in: Chemical Control of Insect Behavior*, (H. H. Shorey und J. J. McKelvey, eds.), pp. 201-213, J. Wiley, New York, 1977.
- Bartell, R. J. 1982. Mechanisms of communication disruption by pheromone in the control of Lepidoptera: a review. *Physiol. Entomol.* 7, 353-364.
- Bartell, R. J., und Lawrence, L. A., 1973. Reduction in responsiveness of males of *Epiphyas postvittana* (Lepidoptera) to sex pheromone following previous brief pheromonal exposure. *J. Insect Physiol.*, 19, 845- 855.
- Berger, R. S. 1966. Isolation, identification and synthesis of sex attractant of the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 59, 767-771.
- Beroza, M., Bieri, B. A., und Moffitt, H. R. 1974. Sex pheromones: (E,E)-8,10-Dodecadien-1-ol in the codling moth. *Science* 183, 89-90.
- Bestmann, H. J., Herrig, M., und Attygalle, A. B. 1987. Terminal acetylation in pheromone biosynthesis by *Mamestra brassicae* (Lepidoptera: Noctuidae). *Experientia* 43, 1033-1034.
- Biwer, G. und Descoins, C. 1978. Approche d'un mécanisme d'isolement sexuel entre quatre espèces de Tortricidae du genre *Grapholita*. *C. R. Acad. Sc. Paris*, 286, 875-877.
- Bjostad, L. B., Gaston, L. K., und Shorey, H. H. 1980: Temporal pattern of sex pheromone release by female *Trichoplusia ni*. *J. Insect Physiol.* 26, 493-498.
- Bjostad, L. B., Linn, C. E., Du, J.-W., und Roelofs, W. L. 1984. Identification of new sex pheromone components in *Trichoplusia ni*, predicted from biosynthetic precursors. *J. Chem. Ecol.* 10, 1309-1323.
- Bjostad, L. B., und Roelofs, W. L. 1981. Sex pheromone biosynthesis from radiolabeled fatty acids in the redbanded leafroller moth. *J. Biol. Chem.* 256, 7936- 7940.

- Bjostad, L. B., Wolf, W. A., und Roelofs, W. L. 1987. Pheromone biosynthesis in Lepidoptera: Desaturation and chain shortening. *in: Pheromone Biochemistry*, (G. D. Prestwich und G. J. Blomquist, eds.), pp. 77-120, Academic Press, London, New York.
- Boeckh, J. 1974. Die Reaktionen olfaktorischer Neurone im Deutocerebrum von Insekten im Vergleich zu den Antwortmustern der Geruchssinneszellen. *J. Comp. Physiol.* 90, 183-205.
- Boeckh, J. 1984. Neurophysiological aspects of insect olfaction. *in: Insect communication*, (T. Lewis, ed.), pp. 83-104, Academic Press, London, New York.
- Boeckh, J., und Ernst, K. D. 1987. Contribution of single unit analysis in insects to an understanding of olfactory function. *J. comp. Physiol.* 161, 549-565.
- Boeckh, J., Ernst, K. D., Sass, H., und Waldow, U., 1984. Anatomical and physiological characteristics of individual neurones in the central antennal pathway of insects. *J. Insect Physiol.* 30, 15-16.
- Bovey, P. 1972. Super-famille des Tortricidae. *in: Entomologie appliquée à l'Agriculture*, Vol. II.1, (A.S. Balachovsky, ed.), pp. 456-893, Masson, Paris.
- Bradshaw, J. W. S., Baker, R., und Lisk, J. C. 1983. Separate orientation and releaser components in a sex pheromone. *Nature* 304, 265-267.
- Buechi, R., Priesner, E., und Brunetti, R. 1982. Das sympatrische Vorkommen des Maiszünslers, *Ostrinia nubilalis* Hbn., in der Südschweiz. *Mitt. Schweiz. Entomol. Ges.* 55, 33-53.
- Buser, H. R. und Arn, H. 1975. Analysis of insect pheromones by quadrupole mass fragmentography and high-resolution gas chromatography. *J. Chromatogr.* 106, 83-95.
- Butenandt, A., Beckmann, R., Stamm, D., und Hecker, E. 1959. Über den Sexual-Lockstoff des Seidenspinners *Bombyx mori*. Reindarstellung und Konstitution. *Z. Naturforsch.* 14b, 283-284.
- Cardé, A. M., Baker, T. C., und Cardé, R. T. 1979. Identification of a four-component sex pheromone of the female Oriental fruit moth, *Grapholitha molesta* (Lepidoptera: Tortricidae). *J. Chem. Ecol.* 5, 423-427.
- Cardé, R. T. 1979. Behavioral responses of moths to female-produced pheromones and the utilization of attractant-baited traps for population monitoring. *in: Movement of highly mobile insects: concepts and methodology in research*, (R. L. Rabb und G. C. Kennedy, eds.), pp. 286-315, N. C. State University Press, Raleigh.
- Cardé, R. T., und Charlton, R. E. 1984. Olfactory sexual communication in Lepidoptera: strategy, sensitivity and selectivity. *in: Insect communication*, (L. Lewis, ed.), pp. 241-265, Academic Press, London, New York.

- Cardé, R. T., und Roelofs, W. L. 1973. Temperature modification of male sex pheromone response and factors affecting female calling in *Holomelina immaculata* (Lepidoptera: Arctiidae). *Can. Ent.* 105, 1505-1512.
- Cardé, R. T., und Webster, R. P. 1980. Endogenous and exogenous factors controlling insect sex pheromone production and responsiveness, particularly among Lepidoptera. *in: Regulation of insect development and behaviour*. Sci. Papers Inst. Organic and Physical Chemistry, pp. 991-997, Wroclaw Tech. Univ., Karpacz, Polen.
- Castroville, P. J., und Cardé, R. T. 1979. Environmental regulation of female calling and male pheromone response periodicities in the codling moth (*Laspeyresia pomonella*). *J. Insect Physiol.* 25, 659-667.
- Charlton, R. E., und Cardé, R. T. 1982. Rate and diel periodicity of pheromone emission from female gypsy moths, (*Lymantria dispar*) determined with a glass-adsorption collection system. *J. Insect Physiol.* 28, 423-430.
- Charmillot, P. J. 1987. Some considerations on mating disruption of codling moth, *Cydia pomonella*, and summerfruit tortrix, *Adoxophyes orana*, in apple orchards. *in: Mating disruption: Behaviour of moths and molecules*, Bulletin OILB-Srop, Vol. X, 3, p. 11-16.
- Coffelt, J. A., Sower, L. L., and Vick, K. W. 1978. Quantitative analysis of identified compounds in pheromone gland rinses of *Plodia interpunctella* and *Ephestia cautella* at different times of day. *Environ. Entomol.* 7, 502-505.
- Coffelt, J. A., Vick, K. W., Sower, L. L., and McClellan, W. T. 1979. Sex pheromone mediated behavior of the navel orangeworm, *Amyelois transitella*. *Environ. Entomol.* 8, 587-590.
- Cory, H. T., Datterman, G. E., Daves, G. D., Jr., Sower, L. L., Shepherd, R. F., und Sanders, C. J. 1982. Chemistry and field evaluation of the sex pheromone of Western spruce budworm, *Choristoneura occidentalis* Freeman. *J. Chem. Ecol.* 8, 339-350.
- Datterman, G. E., Cory, H. T., Sower, L. L., und Daves, G. D., Jr. 1984. Sex pheromone of a conifer-feeding budworm, *Choristoneura retiniana*, Walsingham. *J. Chem. Ecol.* 10, 153-160.
- David, C. T. 1986. Mechanisms of directional flight in wind. *in: Mechanisms in Insect Olfaction*, (T. L. Payne, M. Birch, C. Kennedy, eds.), pp. 49-57, Oxford, Oxford University Press.
- Delisle, J., und McNeil, J. M. 1987a. Calling behaviour and pheromone titer of the true armyworm *Pseudaletia unipuncta* (Haw.) (Lepidoptera: Noctuidae) under different temperature and photoperiodic conditions. *J. Insect Physiol.* 33, 315-324.
- Delisle, J., und McNeil, J. N. 1987b. The combined effect of photoperiod and temperature on the calling behaviour of the true armyworm, *Pseudaletia unipuncta*. *Physiol. Entomol.* 12, 157-164.

- Descoins, C., Einhorn, J., Lalanne-Cassou, B., und Pralavorio, M., 1985. Etude de la sécrétion phéromonale de la tordeuse européenne de l'oeillet: *Cacoecimorpha pronubana* (Hb.), Lep. Tortricidae, Tortricinae. Agronomie 5, 19-26.
- Du, J., Löfstedt, C., und Löfqvist, J. 1987. Repeatability of pheromone emissions from individual female ermine moths *Yponomeuta padellus* and *Yponomeuta rorellus*. J. Chem. Ecol. 13, 1431-1441.
- Dunkelblum, E., Kehat, M., Harel, M., und Gordon D. 1987. Sexual behaviour and pheromone titer of the *Spodoptera littoralis* female moth. Entomol. exp. appl. 44, 241-247.
- Einhorn, J., Beauvais, F., Gallois, M., Descoins, C., und Causse, R. 1984. Constituants secondaires de la phéromone sexuelle du carpocapse des pommes, *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera, Tortricidae). C. R. Acad. Sc. Paris, 299, III, 773-778.
- Einhorn, J., Witzgall, P., Audemard, H., Boniface, B., und Causse, R. 1986. Constituants secondaires de la phéromone sexuelle du carpocapse des pommes, *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera, Tortricidae). II. Première approche des effets comportementaux. C. R. Acad. Sc. Paris, 302, III, 263-266.
- Einhorn, J., Witzgall, P., Causse, R., und Barthes, J. 1988. L'émission phéromonale du carpocapse des pommes, *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera, Tortricidae). in: Médiateurs chimiques: comportement et systématique des Lépidoptères. Applications en agronomie. Valence, 13-14 décembre 1985, (C. Descoins und B. Frérot, eds.), Les Colloques de l'INRA n° 46, INRA Publ., pp. 67-73, Paris, 1986.
- Eisner, T. und Meinwald, J. 1987. Alkaloid-derived pheromones and sexual selection in Lepidoptera. in: Pheromone Biochemistry, (G. D. Prestwich und G. J. Blomquist, eds.), pp. 251-269, Academic Press, London.
- Ferkovich, S. M., Oliver, J. E., und Dillard, C. 1982. Pheromone hydrolysis by cuticular and interior esterases of the antennae, legs, and wings of the cabbage looper moth, *Trichoplusia ni* (Hübner). J. Chem. Ecol. 8, 859-866.
- Frérot, B., Gallois, M., Lettéré, M., Einhorn, J., Michelot, D., und Descoins, C. 1982. Sex pheromone of *Pandemis heparana* (Den. and Schiff.) (Lepidoptera: Tortricidae). J. Chem. Ecol. 8, 663-670.
- Gaston, L. K., und Shorey, H. H. 1964. Sex pheromones of noctuid moths: IV. An apparatus for bioassaying the pheromones of six species. Ann. Entomol. Soc. Am. 67, 779-780.
- Gerber, G. H., und Howlader, M. A. 1987. The effects of photoperiod and temperature on calling behaviour and egg development of the bertha armyworm, *Mamestra configurata* (Lepidoptera: Noctuidae). J. Insect Physiol. 33, 429-436.

- Golub, M.A., und Weatherston, I. 1984. Techniques for extracting and collecting sex pheromones. *in*: Techniques in Pheromone Research, (H.E. Hummel and T.A. Miller, eds.), pp. 223-285, Springer-Verlag, New York.
- Götz, B. 1941. Der Sexualduftstoff als Bekämpfungsmittel gegen die Traubenwickler im Freiland. *Wein und Rebe* 23, 75-89.
- Gray, T. G., Slessor, K. N., Grant, G. G., Sheperd, R. F., Holsten, E. H., und Tracey, A. S. 1984. Identification and field testing of pheromone components of *Choristoneura oreia* (Lepidoptera: Tortricidae). *Can. Ent.* 116, 51-56.
- Greenfield, M. 1981. Moth sex pheromones: An evolutionary perspective. *Florida Entomologist*, 64, 4-17.
- Guennelon, G. 1968. L'alimentation artificielle des larves des Lepidoptères phytophages. *Annales des Epiphyties* 11, 539-570.
- Guerin, P.M., Arn, H., Buser, H.R., und Charmillot, P.J. 1986 a. Sex pheromone of *Adoxophyes orana*: additional components and variability in ratio of (Z)-9- and (Z)-11-tetradecenyl acetate. *J. Chem. Ecol.* 12, 763-772.
- Guerin, P. M., Arn, H., Buser, H.-R., Charmillot, P.-J., Tóth, M., Sziráki, G., 1986 b. Sex pheromone of *Grapholita funebrana*: Occurrence of Z-8- and Z-10-tetradecenyl acetate as secondary components. *J. Chem. Ecol.* 12, 1361-1368.
- Guerin, P. M., Baltensweiler, W., Arn, H., und Buser, H.-R. 1984. Host race polymorphism in the larch budmoth. *Experientia* 40, 892-894.
- Hansson, B. S., Löfstedt, C., und Roelofs, W. L. 1987. Inheritance of olfactory response to sex pheromone components in *Ostrinia nubilalis*. *Naturwissenschaften* 74, 497-499.
- Haynes, K. F., and Birch, M. C. 1986. Temporal reproductive isolation between two species of plume moths (Lepidoptera: Pterophoridae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 79, 210-215.
- Haynes, K. F., Gaston, L. K., Pope, M. M., und Baker, T. C. 1983. Rate und periodicity of pheromone release from individual female artichoke plume moths, *Platyptilia carduidactyla* (Lepidoptera: Pterophoridae). *J. Chem. Ecol.* 10, 1597-1600.
- Haynes, K. F., Gaston, L. K., Pope, M. M., und Baker, T. C. 1984. Potential for evolution of resistance to pheromones: Interindividual and interpopulational variation in chemical communication system of pink bollworm moth. *J. Chem. Ecol.* 10, 1551-1565.
- Hendrikse, A. 1986. Intra- and interspecific sex-pheromone communication in the genus *Yponomeuta*. *Physiol. Entomol.* 11, 159-169.
- Hollander, A. L., und Yin, C.-M. 1982. Neurological influences on pheromone release and calling behaviour in the gypsy moth, *Lymantria dispar*. *Physiol. Entomol.* 7, 163-166.

- Hollander, A. L., und Yin, C.-M. 1985. Lack of humoral control in calling and pheromone release by brain, corpora cardiaca, corpora allata and ovaries of the female gypsy moth, *Lymantria dispar* (L.). J. Insect Physiol. 31, 159-163.
- Itagaki, H., und Conner, W. E. 1986. Physiological control of pheromone release behaviour in *Manduca sexta* (L.). J. Insect Physiol. 32, 657-664.
- Kaißling, K. E. 1979. Recognition of pheromones by moths, especially in Saturniids and Bombyx mori. in: Chemical Ecology: Odour Communication in Animals (F. J. Ritter, ed.), pp. 43-56, North Holland Biomed. Press, Amsterdam.
- Kaißling, K.-E. 1987. R. H. Wright lectures on insect olfaction. pp. 75. Ed. K. Colbow. Biering und Numberger, München.
- Kaißling, K. E., Kasang, G., Bestmann, H. J., Stransky, W., und Vostrowsky, O. 1978. A new pheromone of the silkworm moth *Bombyx mori*. Sensory pathway and behavioral effect. Naturwiss. 65, 382-384.
- Karlson, P., und Lüscher, M. 1959. Pheromone. Ein Nomenklaturvorschlag für eine Wirkstoffklasse. Naturwissenschaften 46, 63-64.
- Kawasaki, K. 1981. A functional difference in the individual components of *Spodoptera litura* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae) sex pheromone in the attraction of flying male moths. Appl. Ent. Zool. 16, 63-70.
- Kawasaki, K. 1986. The significance of blends of two sex pheromone components on the behavior of male *Spodoptera litura* F. (Lepidoptera: Noctuidae). J. Ethol. 4, 113-119.
- Kennedy, J. S. 1983. Zigzagging and casting as a programmed response to wind-borne odour: a review. Physiol. Entomol. 8, 109-120.
- Kennedy, J. S. 1986. Some current issues in orientation to odour sources. in: Mechanisms in Insect Olfaction, (T. L. Payne, M. Birch, C. Kennedy, eds.), pp. 11-25, Clarendon Press, Oxford.
- Klun, J. A., Bieri-Leonhardt, B. A., Plimmer, J. R., Sparks, A. N., Primiani, M., Chapman, O. L., Lepone, G., und Lee, G. H. 1980 b. Sex pheromone chemistry of the female tobacco budworm moth, *Heliothis virescens*. J. Chem. Ecol. 6, 177-183.
- Klun, J. A., Leonhardt, B. A., Lopez, J. D., Jr., and Lachance, J. E. 1982. Female *Heliothis subflexa* (Lepidoptera: Noctuidae) sex pheromone: Chemistry and congeneric comparisons. Environ. Entomol. 11, 1084-1090.
- Klun, J. A., und Maini, S. 1979. Genetic bases of an insect chemical communication system: The European corn borer. Environ. Entomol. 8, 423-426.
- Klun, J. A., Plimmer, J. R., Bieri-Leonhardt, B. A., Sparks, A. N., Primiani, M., Chapman, O. L., Lee, G. H., und Lepone, G. 1980 a. Sex pheromone chemistry of female corn earworm moth, *Heliothis zea*. J. Chem. Ecol. 6, 165-175.

- Kochansky, J., Cardé, R. T., Liebherr, J., and Roelofs, W. L. 1975. Sex pheromone of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae), in New York. J. Chem. Ecol. 1, 225-231.
- Konno, Y. 1986. Time-lag between sex pheromone content and the calling behavior in the yellow peach moth, *Conogethes punctiferalis* (Guenée) (Lepidoptera: Pyralidae). Appl. Ent. Zool. 21, 622-624.
- Kou, R., and Chow, Y.-S. 1987. Calling behavior of the cotton bollworm, *Heliothis armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 80, 490-493.
- Kuwahara, Y., Adachi, S., and Tsuchida, N. 1983. Bombykol content in female silkworm moth, *Bombyx mori* (Lepidoptera: Bombycidae): Effect of age, mating and body weight. Appl. Ent. Zool. 18, 182-190.
- Lanier, G. N., Classen, A., Stewart, T., Piston, J. J., and Silverstein, R. M. 1980. *Ips pini*: The basis for interpopulational differences in pheromone biology. J. Chem. Ecol. 6, 677-687.
- Linn, C. E., Jr., Bjostad, L. B., Du, J. W., and Roelofs, W. L. 1984. Redundancy in a chemical signal: behavioral responses of male *Trichoplusia ni* to a 6-component pheromone blend. J. Chem. Ecol. 10, 1635-1658.
- Linn, C. E., Campbell, M. G., and Roelofs, W. L. 1986. Male moth sensitivity to multicomponent pheromones. Critical role of female-released blend in determining the functional role of components and active space of the pheromone. J. Chem. Ecol. 12, 659-668.
- Linn, C. E., and Gaston, L. K. 1981 a. Behavioral responses of male *Trichoplusia ni* in a sustained-flight tunnel to the two sex pheromone components. Environ. Entomol. 10, 379-385.
- Linn, C. E., and Gaston, L. K. 1981 b. Behavioral function of the components and the blend of the sex pheromone of the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. Environ. Entomol. 10, 751-755.
- Linn, C. E. Jr., Hammond, A., Du, J., Roelofs, W. L. 1988. Specificity of male response to multicomponent pheromones in Noctuid moths *Trichoplusia ni* and *Pseudoplusia includens*. J. Chem. Ecol. 14, 47-57.
- Linn, C. E., and Roelofs, W. L. 1983. Effect of varying proportions of the alcohol component on sex pheromone blend discrimination in male oriental fruit moths. J. Chem. Ecol. 8, 291-306.
- Linn, C. E., and Roelofs, W. L. 1985. Response specificity of male pink bollworm moths to different blends and dosages of sex pheromone. J. Chem. Ecol. 11, 1583-1390.
- Lonergan, G. C. 1986. Metabolism of pheromone components and analogs by cuticular enzymes of *Choristoneura fumiferana*. J. Chem. Ecol. 12, 483-496.

- Löfstedt, C., Lanne, B. S., Löfqvist, J., Appelgren, M., und Bergström, G. 1985 a. Individual variation in the pheromone of the turnip moth, *Agrotis segetum*. J. Chem. Ecol. 11, 1181-1196.
- Löfstedt, C., Linn, C. E., und Löfqvist, J. 1985 b. Behavioral responses of male turnip moths, *Agrotis segetum*, to sex pheromone in a flight tunnel and in the field. J. Chem. Ecol. 11, 1209-1221.
- Löfstedt, C., Löfqvist, J., Lanne, B. S., Pers, van der J. N. C., und Hansson, B. S. 1986. Pheromone dialects in European turnip moths *Agrotis segetum*. Oikos 46, 250-257.
- Löfstedt, C., Pers Van der, J. V. C., Löfqvist, J., Lanne, B. S., Appelgren, M., Bergström, G., und Thelin, B. 1982. Sex pheromone components of the turnip moth, *Agrotis segetum*: Chemical identification, electrophysiological evaluation and behavioral activity. J. Chem. Ecol. 8, 1305-1321.
- Mankin, R. W., Vick, K. W., Coffelt, J. A., und Weaver, B. A. 1983 Pheromone-mediated flight by male *Plodia interpunctella* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae). Environ. Entomol. 12, 1218-1220
- Marks, R. J. 1976. Female sex pheromone release and the timing of male flight in the red bollworm *Diaropsis castanea* Hmps. (Lepidoptera, Noctuidae), measured by pheromone traps. Bull. ent. Res. 66, 219-241.
- McDonough, L. M., und Kamm, J. A. 1979. Sex pheromone of the cranberry girdler, *Chrysoteuchia topiaria* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae). J. Chem. Ecol. 5, 211-219.
- McLaughlin, J. R. 1986. Manipulation of orientation to pheromones. in: Mechanisms in Insect Olfaction, (T. L. Payne, M. Birch, C. Kennedy, eds.), pp. 163-168, Clarendon Press, Oxford.
- Miller, J. R. und Roelofs, W. L. 1977. Sex pheromone titer correlated with pheromone gland development and age in the redbanded leafroller moth, *Argyrotaenia velutinana*. Ann. Ent. Soc. Am. 70, 136-139.
- Miller, J. R., und Roelofs, W. L. 1980. Individual variation in sex pheromone component ratios in two populations of the redbanded leafroller moth, *Argyrotaenia velutinana*. Environ. Entomol. 9, 359-363.
- Morse, D., und Meighen, E. 1986. Pheromone biosynthesis and role of functional groups in pheromone specificity. J. Chem. Ecol. 12, 335-351.
- Morse, D., Szittner, R., Grant, G. G., und Meighen, E. A. 1982. Rate of pheromone release by individual spruce budworm moths. J. Insect Physiol. 28, 863-866.
- Nakamura, K., 1981. The mate searching behaviour of *Spodoptera litura* and components of its sex pheromone. in: Regulation of insect development and behaviour (M. Kioza, ed.), Sci.

- Papers Inst. Organic Physic. Chemistry, pp. 941-954, Wrocław Tech. Univ., Karpacz, Polen.
- Nishida, R., Baker, T. C., und Roelofs, W. L. 1982. Hairpencil pheromone components of male oriental fruit moths, *Grapholita molesta*. J. Chem. Ecol. 8, 947-959.
- Noguchi, H., Sugie, H., Tamaki, Y., and Oomasa, Y. 1985. Sex-pheromone components and related compounds released by virgin females of *Adoxophyes spec.* and *Adoxophyes orana fasciata* (Lep.: Tortricidae) Jap. J. Appl. Ent. Zool. 29, 278-281.
- O'Connell, R. J., Beauchamp, J. T., und Grant, A. J. 1986. Insect olfactory responses to components of pheromone blends. J. Chem. Ecol. 12, 451-467.
- Ono, T. 1985. Male approach to the female and the role of two pheromone components in the potato tuberworm moth, *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera: Gelechiidae). Appl. Ent. Zool. 20, 34-42.
- Palaniswamy, P., Underhill, E. W., Steck, W. F., und Chisholm, M. D. 1983. Responses of male redbanded cutworm, *Euxoa ochrogaster* (Lepidoptera: Noctuidae), to sex pheromone components in a flight tunnel. Environ. Entomol. 12, 748-752.
- Pefia, A., Arn, H., Buser, H.-R., Rauscher, S., Bigler, F., Brunetti, R., Maini, S., und Tóth, M. 1988. Sex pheromone of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*: Polymorphism in various laboratory and field strains. J. Chem. Ecol., 14, 1359-1366.
- Percy, J. E., und Weatherston, J. 1974. Gland structure and pheromone production in insects. in: Pheromones, Frontiers of Biology, (M. Birch, ed.), Vol. 32, pp. 12-34., North Holland Publ. Corp., Amsterdam.
- Percy-Cunningham, J. E., und MacDonald, J. A. 1987. Biology and ultrastructure of sex pheromone-producing glands. in: Pheromone Biochemistry, (G. D. Prestwich und G. J. Blomquist, eds.), pp. 27-75, Academic Press, London.
- Pope, M. M., Gaston, L. K., und Baker, T. C. 1982. Composition, quantification, and periodicity of sex pheromone gland volatiles from individual *Heliothis virescens* females. J. Chem. Ecol. 8, 1043-1055.
- Preiss, R. und Kramer, E. 1983. Stabilization of altitude and speed in tethered flying gypsy moth males: influence of (+) and (-)-disparlure. Physiol. Entomol. 8, 55-68.
- Preiss, R. und Kramer, E. 1986. Mechanism of pheromone orientation in flying moths. Naturwissenschaften 7, 387-389.
- Priesner, E. 1979. Specificity studies on pheromone receptors of noctuid and tortricid Lepidoptera. in: Chemical Ecology: Odour Communication in Animals, (F.J. Ritter, ed.), pp. 57-71, Elsevier, Amsterdam.
- Priesner, E. 1983. Receptors for di-unsaturated pheromone analogues in the male summerfruit tortrix moth. Z. Naturforsch. 38c, 874- 877.

- Priesner, E. 1984. The pheromone receptor system of male *Eulia ministrana* L., with notes on other Cnephasiini moths. *Z. Naturforsch.*, 39 c, 849-852.
- Priesner, E. 1985. Pheromone als Sinnesreize. *Verh. Ges. der Naturforscher und Ärzte, Nürnberg*, 207-226.
- Priesner, E. 1986. Correlating sensory and behavioural responses in multichemical pheromone systems of Lepidoptera. *in: Mechanisms in Insect Olfaction*, (T. L. Payne, M. Birch, C. Kennedy, eds.), pp. 225-233, Clarendon Press, Oxford.
- Priesner, E., und Baltensweiler, W. 1987 a. Studien zum Pheromon-Polymorphismus von *Zeiraphera diniana* Gn. (Lep., Tortricidae). 1. Pheromon-Reaktionstypen männlicher Falter in europäischen Wildpopulationen, 1975-85. *J. Appl. Ent.* 104, 234-256.
- Priesner, E., und Baltensweiler, W. 1987 b. Studien zum Pheromon-Polymorphismus von *Zeiraphera diniana* Gn. (Lep., Tortricidae). 2. Pheromon-Reaktionstypen bei F₁-Hybriden dreier Wirtsrassen. *J. Appl. Ent.* 104, 433-448.
- Priesner, E., und Witzgall, P. 1984. Modification of pheromonal behaviour in wild *Coleophora laricella* male moths by (Z)-5-decenyl acetate, an attraction-inhibitor. *Z. ang. Ent.* 98, 118-135.
- Priesner, E., Witzgall, P., und Voerman S. 1986. Field attraction response of raspberry clearwing moths, *Pennisetia hylaeiformis* Lasp. (Lepidoptera: Sesiidae), to candidate pheromone chemicals. *J. Appl. Ent.* 102, 195-210.
- Raina, A. K., Jaffe, H., Klun, J. A., Ridgway, R. L., und Hayes, D. K. 1987. Characteristics of a neurohormone that controls sex pheromone production in *Heliothis zea*. *J. Insect Physiol.*, 33, 809-814.
- Raina, A. K., Klun, J. A., und Stadelbacher, E. A. 1986. Diel periodicity and effect of age and mating on female sex pheromone titer in *Heliothis zea* (Lepidoptera: Noctuidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 79, 128-131.
- Raina, A. K., und Menn, J. J. 1987. Endocrine regulation of pheromone production in Lepidoptera. *in: Pheromone Biochemistry*, (G. D. Prestwich und G. J. Blomquist, eds), pp. 159-174, Academic Press, London.
- Ramaswamy, S. B., und Carde, R. T. 1984. Rate of release of spruce budworm pheromone from virgin females and synthetic lures. *J. Chem. Ecol.* 10, 1-7.
- Roelofs, W. L. 1978. Threshold hypothesis for pheromone perception. *J. Chem. Ecol.* 4, 685-699.
- Roelofs, W. L. and Brown, R. L., 1982. Pheromones and evolutionary relationships of Tortricidae. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 13, 395-422.

- Roelofs, W. L., und Cardé, R. T. 1974. Sex pheromones in the reproductive isolation of lepidopterous species. *in: Pheromones*, (M. C. Birch, ed.), pp. 96-114, North-Holland, Amsterdam.
- Roelofs, W. L., und Cardé, R. T. 1977. Responses of Lepidoptera to synthetic sex pheromone chemicals and other analogues. *Ann. Rev. Entomol.* 22, 377-405.
- Roelofs, W. L., Comeau, A., Hill, A., und Milicevic, G. 1971. Sex attractant of the codling moth: Characterization with electroantennogram technique. *Science* 174, 297-299.
- Roelofs, W. L., Du, J.-W., Tang, X.-H., Robbins, P. S., und Eckenrode, C. J. 1985. Three European corn borer populations in New York based on sex pheromones and voltinism. *J. Chem. Ecol.* 11, 829-836.
- Roelofs, W. L., Glover, T., Tang, X.-H., Sreng, I., Robbins, P., Eckenrode, C., Löfstedt, C., Hansson, B., Bengtsson, B.-O. 1987. Sex pheromone production and perception in European corn borer moths requires both autosomal and sex-linked genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 84, 7585-7589.
- Sanders, C. J. 1987. Research on mating behaviour and its importance for developing techniques of mating disruption. *in: Mating disruption: Behaviour of moths and molecules*, Bulletin OILB-Srop, Vol. X, 3, p. 30-31.
- Sanders, C. J., Daterman, G. E., und Ennis, T. J., 1977. Sex pheromone responses of *Choristoneura* spp. and their hybrids (Lepidoptera: Tortricidae). *Can Ent.* 109, 1203- 1220.
- Schal, C., und Carde, R. T. 1985. Rhythmic extrusion of pheromone gland elevates pheromone release rate. *Experientia* 41, 1617-1619.
- Schal, C., und Cardé, R. T. 1986. Effects of temperature and light on calling in the tiger moth *Holomelina lamae* (Freeman) (Lepidoptera: Arctiidae). *Physiol. Entomol.* 11, 75-87.
- Schal, C., Charlton, R. E., und Carde R. T. 1987. Temporal patterns of sex pheromone titers and release rates in *Holomelina lamae* (Lepidoptera: Arctiidae). *J. Chem. Ecol.* 13, 1115-1129.
- Schneider, D. 1957. Elektrophysiologische Untersuchungen von Chemo- und Mechanorezeptoren der Antenne des Seidenspinners *Bombyx mori* L. *Z. Vergl. Physiol.*, 40, 8-41.
- Schneider, D. 1983. Kommunikation durch chemische Signale bei Insekten: Alte und neue Beispiele von Lepidopteren. *Verh. Dtsch. Zool. Gesellsch.* 1983, 5-16.
- Schneider, D. 1984 a. Insect Olfaction: our research endeavour. *in: Foundations of sensory science.*, (W. W. Dawson, J. M. Enoch, eds.), pp. 381-418, Springer, Berlin, Heidelberg.
- Schneider, D. 1984 b. Pheromone biology in the Lepidoptera: overview, some recent findings and some generalizations. *in: Comparative physiology of sensory systems*, (R. D. Keynes und S. H. P. Maddrell, eds.), pp. 381-418, Cambridge University Press, 1984.

- Shani, A., und Lacey, M. J. 1984. Convenient method applicable to single insects for collection and measurement of blend ratios of airborne pheromones from artificial sources. *J. Chem. Ecol.* 10, 1677-1692.
- Shorey, H. H., McFarland, S. U., and Gaston, L. K. 1968. Sex pheromone chemistry of noctuid moths. XIII. Changes in pheromone quantity, as related to reproductive age and mating history, in females of seven species of Noctuidae (Lepidoptera). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 61, 372-376.
- Silk, P. J., Kuenen, L. P. S., Tan, S. H., Roelofs, W. L., Sanders, C. J. und Alford, A. R. 1985. Identification of sex pheromone components of jack pine budworm, *Choristoneura pinus pinus* Freeman. *J. Chem. Ecol.* 11, 159-167.
- Silk, P. J., Tan, H., Wiesner, C. J., Ross, R. J., und Lonergan, G. C. 1980. Sex pheromone chemistry of the eastern spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *Environ. Entomol.* 9, 640-644.
- Silk, P. J., Wiesner, C. J., Tan, S. H., Ross, R. J., und Grant, G. G. 1982. Sex pheromone chemistry of the western spruce budworm *Choristoneura occidentalis* Free. *J. Chem. Ecol.* 8, 351-362.
- Snir, R., Dunkelblum, E., Gothliff, S., und Harpaz, I. 1986. Sexual behaviour and pheromone titer in the tomato looper, *Plusia chalcites* (Esp.) (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Insect Physiol.* 32, 735-739.
- Sower, L. L., Gaston, L. K., und Shorey, H. H. 1971. Sex pheromones of noctuid moths. XXVI. Female release rate, male response threshold, and communication distance for *Trichoplusia ni*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 64, 1148-1456.
- Sower, L. L., Shorey, H. H., und Gaston, L. K. 1972. Sex pheromones of Lepidoptera. XXVIII. Factors modifying the release rate and extractable quantity of pheromone from females of *Trichoplusia ni* (Noctuidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 65, 954-957.
- Struble, D. L., Arn, H., Buser, H. R., Städler, E., und Freuler, J. 1980. Identification of 4 sex pheromone components isolated from calling females of *Mamestra brassicae*. *Z. Naturforsch.* 35c, 45-48.
- Swaby, J. A., Daterman, G. E., and Sower, L. L. 1987. Mating behavior of douglas-fir tussock moth, *Orgyia pseudotsugata* (Lepidoptera: Lymantriidae), with special reference to effects of female age. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 80, 47-50.
- Swier, S. R., Rings, R. W., und Musick, G. J. 1977. Age-related calling behaviour of the black cutworm, *Agrotis ipsilon*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 70, 919-924.
- Tamaki, Y. 1985. Sex Pheromones. *in: Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, (G. A. Kerkut und L. I. Gilbert, eds.), pp. 145-191, Pergamon Press, Oxford.

- Teal, P. E. A., und Tumlinson, J. H. 1986. Terminal steps in pheromone biosynthesis by *Heliothis virescens* and *H. zea*. J. Chem. Ecol. 12, 353-366.
- Teal, P. E. A., and Tumlinson, J. H. 1987. The role of alcohols in pheromone biosynthesis by two noctuid moths that use acetate pheromone components. Arch. Insect Biochem. Physiol. 4, 261-270.
- Teal, P. E. A., Byers, J. R., und Philogene, B. J. R. 1978. Differences in female calling behavior of three interfertile sibling species of *Euxoa* (Lepidoptera: Tortricidae). Ann. Entomol. Soc. Am. 71, 630-634.
- Teal, P. E. A., Mitchell, E. R., Tumlinson, J. H., Heath, R. R., und Sugie, H. 1985. Identification of volatile sex pheromone components released by the southern armyworm, *Spodoptera eridania* (Cramer). J. Chem. Ecol. 11, 717-725.
- Teal, P. E. A., Tumlinson, J. H., and Heath, R. R. 1986. Chemical and behavioral analyses of volatile sex pheromone components released by calling *Heliothis virescens* (F.) females (Lepidoptera: Noctuidae). J. Chem. Ecol. 12, 107-126.
- Tóth, M., Bellas, T. E., und Rothschild, G. H. L. 1984. Role of pheromone components in evoking behavioral responses from male potato tuberworm moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae). J. Chem. Ecol. 10, 271-280.
- Traynier, R. M. M. 1970. Habituation of the response to sex pheromone in two species of Lepidoptera, with reference to a method of control. Ent. exp. appl., 13, 179- 187.
- Tumlinson, J. H., Mitchell, E. R., Teal, P. E. A., Heath, R. R., und Mengelkoch, L. J. 1986. Sex pheromone of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). Identification of components critical to attraction in the field. J. Chem. Ecol. 12, 1909-1926.
- Tumlinson, J. H., und Teal, P. E. A. 1987. Relationship of structure and function to biochemistry in insect pheromone systems. in: Pheromone Biochemistry, (G. D. Prestwich und G. J. Blomquist, eds.), pp. 3-26, Academic Press, London.
- Turgeon, J., und McNeil, J. 1982. Calling behaviour of the armyworm, *Pseudaletia unipuncta*. Ent. exp. appl. 31, 402-408.
- Vetter, R. S., und Baker, T. C. 1984. Behavioral responses of male *Heliothis zea* moths in sustained flight-tunnel to combinations of 4 compounds identified from female sex pheromone gland. J. Chem. Ecol. 10, 193-202.
- Vogt, H. 1987. Several years of experience with the mating disruption technique for control of the European grape moth *Eupoecilia ambiguella* Hbn. in: Mating disruption: Behaviour of moths and molecules, pp. 3-4. Bulletin SROP, 1987/X3.
- Vogt, R. D., und Riddiford, L. M. 1986. Scale esterase: A pheromone-degrading enzyme from scales of silk moth *Antheraea polyphemus*. J. Chem. Ecol. 12, 469-482.

- Webster, R. P., und Cardé, R. T. 1982. Relationships among pheromone titer, calling and age in the omnivorous leafroller moth (*Platynota stultana*). J. Insect Physiol. 28, 925-933.
- West-Eberhard, M. J. 1984. Sexual selection, competitive communication and species-specific signals in insects. in: Insect Communication, (T. Lewis, ed.), pp. 283-324, Academic Press, London 1984.
- Willis, M. A., und Baker, T. C. 1987. Comparison of manoeuvres used by walking versus flying *Grapholita molesta* males during pheromone-mediated upwind movement. J. Insect Physiol. 33, 875-883.
- Witzgall, P. 1985. Diurnal and seasonal flight activity of male *Coleophora laricella* as determined by sex-attractant traps. Z. ang. Ent. 3, 225-233.
- Witzgall, P. 1987. Measuring pheromone release by individual females. in: Mating disruption: Behaviour of moths and molecules, Bulletin OILB-Srop, Vol. X, 3, p. 64.
- Witzgall, P. und Priesner, E. 1984. Behavioural responses of *Coleophora laricella* male moths to synthetic sex attractant, Z-5-decen-1-ol, in the field. Z. ang. Ent. 98, 15-30.
- Witzgall, P. und Priesner, E. 1985. Are sex-attractant traps a valid approach to determine dispersal in *Coleophora laricella*? Z. ang. Ent. 100, 360-367.
- Witzgall, P., und Priesner, E. 1989. Wind tunnel studies on an attraction inhibitor in *Coleophora laricella* (Lepidoptera: Coleophoridae). in Vorber.
- Witzgall, P., Sauter, W., Buser, H.-R., Rauscher, S., Arn, H., Charmillot, P.-J., und Wildbolz, T. 1988. Sex pheromone of *Grapholita prunivorana*. Ent. exp. appl., in Druck.
- Wolf, W. A., und Roelofs, W. L. 1987. Reinvestigation confirms action of $\Delta 11$ -desaturases in spruce budworm moth sex pheromone biosynthesis. J. Chem. Ecol. 13, 1019-1027.
- Zar, J. H. 1984. Biostatistical analysis. Second edition. Prentice-Hall, New Jersey.

Lebenslauf

Am 28. März 1957 wurde ich in Dachau (Oberbayern) geboren, dem Wohnort meiner Eltern Marianne und Konrad Witzgall.

1967-1976 Besuch des mathematisch-naturwissenschaftlichen Gymnasiums in Dachau.

1976-1983 Studium der Biologie an der Technischen Universität München. Die Diplomarbeit "Untersuchungen zur Pheromonbiologie von *Coleophora laricella* Hbn." wurde unter der Betreuung von Herrn Dr. Ernst Priesner am Max-Planck-Institut für Verhaltensphysiologie, Seewiesen angefertigt.

1984 Studienaufenthalt am Institut für Biologische Kybernetik der Universität Tübingen.

1984-1986 Forschungsaufenthalt am Laboratoire des Médiateurs Chimiques, Brouessy, unter Betreuung von Herrn Dr. C. Descoins und Herrn Dr. E. Priesner.

1987 Forschungstätigkeit an der Eidgenössischen Forschungsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau, Wädenswil bei Herrn Dr. H. Am.

